UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1962-1963 N° 825

# La Vaccination Antipoliomyélitique Expérimentale contrôlée par les Réactions Électrophorétiques et Hémolysantes

## Son rapport avec la Pantothénothérapie

# THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 30 octobre 1962
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

EDMOND ZANDER
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse { MM. R. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Professeur
J. MEYER, Maître de conférences } Juges

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1962

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548001_0033

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1962-1963 N° 825

# La Vaccination Antipoliomyélitique Expérimentale contrôlée par les Réactions Électrophorétiques et Hémolysantes

## Son rapport avec la Pantothénothérapie

# THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 30 octobre 1962
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

par

EDMOND ZANDER
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse { MM. R. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Professeur
J. MEYER, Maître de conférences } Juges

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1962

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

# FACULTÉ DE PHARMACIE

## ADMINISTRATION :

MM. GAZET DU CHATELIER, *Doyen*, I. ✪
SCHREIBER, *Assesseur*, I. ✪
CLADY, *Secrétaire*, I. ✪

## PROFESSEURS :

| | | |
|---|---|---|
| MM. | LAPP, ❋, I. ✪ | Physique |
| | SARTORY, O. ❋, I. ✪, O. ⚚ | Bactériologie |
| | CORDIER, ❋, I. ✪ | Pharmacie chimique |
| | DUQUÉNOIS, ❋, I. ✪, ⚚ | Matière médicale |
| | JAEGER, I. ✪, ⚚ | Botanique |
| | GAZET DU CHATELIER, I, ✪ | Pharmacie galénique |
| | HASSELMANN, I. ✪ | Chimie analytique |
| | SCHREIBER, I. ✪ | Chimie organique |
| | EBEL, ❋, ⚚, I. ✪ | Chimie biologique |

## MAITRES DE CONFÉRENCES

| | | |
|---|---|---|
| MM. | LEDOUX, ⚚, ✪ | Sciences naturelles |
| | MÉTAIS | Sciences appliquées |
| | MALGRAS | Sciences naturelles |
| | LAUSTRIAT | Sciences physico-chimiques |

## MAITRE DE CONFÉRENCES HONORAIRE :

M. COLLARD

## COURS COMPLÉMENTAIRES :

| | | |
|---|---|---|
| MM. | C. LAPP | Acoustique |
| | SARTORY | Cryptogamie |
| | CORDIER | Éléments de chimie organique |
| | DUQUÉNOIS | Hydrologie |
| | GAZET DU CHATELIER | Pharmacodynamie |
| | HASSELMANN | Chimie minérale |
| | SCHREIBER | Chimie générale |
| | EBEL | Biochimie analyt. et séméiolog. |
| | LAVIGNE | Législation et Déontologie pharmaceutiques |
| | LEDOUX | Bactériologie pharm. et techn. |
| | MALGRAS | Sérologie |
| | LAUSTRIAT | Minéralogie et Éléments de mathématiques |
| | C. MEYER | Comptabilité et fiscalité pharmaceutiques |

## CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES :

| | | |
|---|---|---|
| Mme | KRISTENSEN | Chimie pharmaceutique |
| MM. | MATHIS | Chimie |
| | CARBIENER | Histoire naturelle |
| | STAHL | Bactériologie et Parasitologie |
| | C. F. LAPP | Chimie et Physique |
| | ROMOND | Bactériologie |

*Au Président du Jury de ma Thèse,*

Monsieur R. SARTORY

*Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie*
*à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*

*A mes Juges,*

Monsieur P. CORDIER

*Professeur de Pharmacie Chimique*
*à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*

Monsieur J. MEYER

*Ancien Maître de Conférences d'Hygiène et de Microbiologie*
*à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*

Hommage de sincère reconnaissance.

*A la Mémoire de mes Parents,*

*A ma Femme,*

*A mes Enfants.*

# INTRODUCTION

Pour la détermination d'un microorganisme on est obligé de recourir à des méthodes indirectes tant qu'on ne peut pas l'isoler. *L'étude directe* était impossible jusqu'à ces dernières années pour *le virus de la poliomyélite* puisque sa culture n'est réalisable que depuis peu et l'on a longtemps discuté pour savoir s'il s'agit d'un organisme vivant ou d'une molécule de grande taille. Cette conception a été appuyée par les récents travaux de FINCH et KLUG, qui ont pu mettre en évidence des éléments cristallins dans *le virus de la poliomyélite*. La meilleure définition actuelle pour *les virus* serait donc de les considérer comme des « *substances vivantes* ».

D'après Sven GARD, il serait désirable d'étudier *un virus* d'après ses propriétés individuelles, sans tenir compte des processus de réaction de l'organisme-hôte. Cette doctrine n'est cependant pas applicable au *virus de la poliomyélite*, puisque son étude n'est possible qu'en considérant certains critères cliniques et pathologiques.

Certains facteurs épidémiologiques relevés principalement par MEDIN ont incité, au début de ce siècle, LANDSTEINER et POPPER à provoquer la *poliomyélite expérimentale* du singe. On pouvait admettre qu'à la suite de ce premier pas, l'étude du virus prendrait un essor rapide, mais c'est seulement en 1936 que SABIN et OLITZKY ont réussi à cultiver *le virus Pm* en culture sur tissu. Il fallut encore 12 ans de recherches pour qu'ENDERS, WELLER et ROBINS arrivent à cultiver ce virus dans des tissus autres que nerveux.

Bien que nous puissions parler aujourd'hui d'une victoire sur *la poliomyélite*, consécutive aux travaux de SALK, LÉPINE, SABIN, KOPROWSKY et COX, il semble paradoxal, comme le mentionne Sven GARD, que nous ne possédions pas encore de *système taxonomique rationnel de la classification du virus Pm* *). On est donc obligé de se référer *aux facteurs immunologiques* pour réunir les trois souches poliomyélitiques : *Brunhilde* (type 1 *Mahoney*) *Lansing* (type 2 MEF) et *Léon* (type 3, *Saukett*) avec les espèces *de virus hominis et muris* de THEILER. Ces germes peuvent constituer alors un genre taxonomique homogène. Ce fait peut être expliqué, parce qu'il a fallu d'abord résoudre des problèmes cliniques et pathologiques beaucoup plus importants que les questions purement scientifiques.

Les progrès accomplis depuis quelques années dans nos connaissances sur les virus ont en effet permis d'étendre considérablement nos moyens d'investigation et de diagnostic. En particulier, les méthodes d'isolement et de culture des virus, la préparation d'antigènes spécifiques nous donne aujourd'hui le moyen d'appliquer *aux maladies à virus de l'homme et des animaux* des procédés diagnostiques qui, d'après LÉPINE, ne diffèrent pas fondamentalement dans leur essence des méthodes couramment employées pour *le diagnostic des infections causées par des bactéries*.

Alors que reconnaître et identifier une maladie à virus était, il y a peu d'années encore, l'apanage *des laboratoires hautement spécialisés*, nombre de techniques mises au point depuis peu mettent à la portée de la plu-

*) Pour simplifier le texte de notre exposé nous nous permettons de désigner « virus poliomyélitique » par le symbole de « *virus Pm* ».

part des laboratoires convenablement équipés et entraînés, la possibilité d'un diagnostic à la fois précoce et précis.

En ce qui concerne *la poliomyélite*, nous savons que grâce aux principes de la culture sur tissu, on a pu mettre au point le *test de neutralisation*, basé sur l'effet cytopathogène du virus et facilement contrôlable au microscope ordinaire. Cette technique est actuellement la plus utilisée pour la mise en évidence *des virus Pm* dans les matières fécales, les prélèvements bucco-pharyngés, les eaux et les produits alimentaires. On conçoit cependant, comme le dit très justement G. RITSCHEL-BEURLIN, les inconvénients de cette méthode qui, malgré sa grande spécificité, est réservée justement à des *laboratoires spécialisés* ayant l'habitude de travailler avec du matériel viral vivant et virulent. Il serait donc préférable d'avoir à son service des méthodes moins dangereuses, telles que les *techniques sérologiques de déviation du complément, de précipitation, l'électrophorèse.* Nous avons voulu apporter une contribution à ce problème, en essayant de contrôler *l'immunité naturelle et artificielle* au moyen de ces méthodes adaptées *au diagnostic de la poliomyélite.* Cette étude nous semble très importante aujourd'hui, étant donné l'emploi très généralisé du vaccin antipolio, tant du type SALK-LEPINE (tué) que du type KOPROWSKY-SABIN (atténué). C'est surtout pour cette dernière vaccination avec *des virus vivants* que le contrôle de l'*immunité artificiellement conférée et le passage éventuel de virus vivant* aux sujets de contact est de première importance et nécessite des méthodes plus simples et moins dangereuses. Nous avons essayé de comparer *les différentes méthodes sérologiques et électrophorétiques avec les tests de neutralisation*, seuls considérés jusqu'à présent comme valables.

Avant d'entrer dans le vif de notre sujet, qu'il nous soit permis de remercier bien vivement Monsieur R. SARTORY, *Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.* Il nous a accueilli dans son laboratoire, avec une amabilité que nous ne sommes pas prêt d'oublier et nous fait aujourd'hui le grand honneur de présider notre Jury de thèse. Nous tenons à remercier également Monsieur P. CORDIER, *Professeur de Pharmacie Chimique à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*, pour la gentillesse avec laquelle il a accepté siéger dans ce jury.

Toute notre gratitude va à Monsieur J. MEYER, *Ancien Maître de Conférences d'Hygiène et de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.* Il a été l'instigateur de ce travail et ne nous a pas ménagé ses conseils et son aide tout au long de son élaboration.

Nous n'oublierons pas l'accueil aimable que nous a toujours réservé Monsieur J. MALGRAS, *Maître de Conférences de Sciences Naturelles à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*, ainsi que toutes les autres personnes que nous avons eu la joie de connaître dans ce si sympathique laboratoire de Microbiologie.

Enfin, nous adressons nos plus vifs remerciements à Madame Vve FISCHER, qui a soigné nos nombreux lapins avec un dévouement et une conscience de toute rigueur.

## PLAN DE TRAVAIL

Le but de notre travail est de contrôler *l'installation et l'évolution du processus immunologique au cours de la vaccination antipoliomyélitique au moyen de la réaction de déviation du complément et par l'électrophorèse.* Comme épreuve test, nous aurons recours au test de neutralisation. D'autre part, le problème qui nous est posé concerne l'action de *l'acide pantothénique sur le processus d'immunisation.*

*Dans la première partie, historique,* de notre travail, nous exposons la morphologie, la culture et l'isolement *du virus Pm ;* un chapitre est réservé à l'épidémiologie de la poliomyélite où nous aurons l'occasion d'envisager surtout la statistique de cette maladie, en particulier *en France et en Suisse.*

*Le Chapitre* III a trait à la vaccination antipoliomyélitique ; nous parlons des vaccins sensibilisés, des vaccins inactivés et des vaccins, plus récents, à virus vivants atténués.

*Nos travaux personnels* sont relatés dans *la deuxième partie* de notre ouvrage ; dans *le Chapitre* IV nous étudions les sérums de lapins normaux et vaccinés contre la poliomyélite, en ayant recours à l'électrophorèse. Nous donnons les détails de la technique employée et les résultats obtenus sont contrôlés par le dosage de l'*azote total* au moyen de la micro-méthode de Kjeldahl. Nous décrivons ensuite nos techniques de vaccination.

L'étude électrophorétique de sérum de lapin traité par *la vaccination antipoliomyélitique associée à la pantothénothérapie* est décrite dans *le Chapitre* V. Nous contrôlons à la fois le taux des anticorps hémolysants et neutralisants, ainsi que l'évolution des facteurs protidiques par l'électrophorèse. Ces expériences ont trait à la vaccination par voie parentérale et à l'aide d'*antigènes inactivés.*

Dans *le Chapitre* VI nous contrôlons les processus immunologiques dus à l'administration des *vaccins vivants atténués seuls ou associés à la pantothénothérapie.* Ici, nous ne nous adressons qu'à la réaction de déviation du complément (*méthode quantitative de Kolmer*) comparativement au test de neutralisation.

Des *Conclusions générales* terminent notre exposé.

# PREMIÈRE PARTIE

# HISTORIQUE

## CHAPITRE I

## ÉTUDE MORPHOLOGIQUE, CULTURALE ET ISOLEMENT DU VIRUS POLIOMYÉLITIQUE

### *Morphologie :*

Déjà Landsteiner et Levaditi (1) ont constaté en 1909 que le *virus de la poliomyélite* est facilement filtrable et Kruger et Schultz (2) ont confirmé son ultrafiltrabilité en 1938. Sa taille est évaluée par Bauer et Hughes (3), par filtration sur membrane graduée, de 12 à 17 mμ ou encore de 8 à 12 mμ par d'autres auteurs, tels que Elford (4) ainsi que Levaditi *et ses collaborateurs* (5). La centrifugation lui assigne un diamètre de 12,5 mμ d'après les travaux de Gard (6) et la microscopie électronique indique un diamètre de 25 mμ d'après Loring et Schwerdt (7). C'est donc l'un des plus petits parmi les virus. La taille peut varier suivant les différentes souches étudiées.

Le virus contient une nucléoprotéine également mise en évidence par Gard, mais son étude complète n'a pas encore été faite. D'après des documents récents (Loring, Marton et Schwerdt, 1946) il a la forme d'éléments sphériques monodispersés.

### *Propriétés physico-chimiques :*

*Le virus poliomyélitique* est l'un des plus résistants; il supporte des pH de 4,0 à 10,0. Dans l'eau à la température ambiante, Kling, Levaditi et Lepine (8) ont trouvé qu'il résiste au moins 114 jours, mais il est inactivé par le chlore à la dose de 0,05 partie pour 1 million. *Le virus Pm* résiste à l'extraction par l'éther, l'alcool et le benzène. Il résiste pendant 10 jour à l'acide phénique à 1 /100 (Brodie, 1935). Il faut plus de trois jours au formol à 0,3 % pour l'inactiver et il résiste entièrement à 0,2 %. Par contre, il est très sensible aux réactifs oxydants (peroxyde, permanganate et rayons ultra-violets). Il résiste mal à la dessiccation, mais se conserve des années dans la glycérine et en état de congelation.

D'après Hamon *et ses collaborateurs* (9) la température de 50° inactive le virus en trois minutes, celle de 80° le tue en 31 secondes, d'après Lepine, Sohier et Nantel (10). Il supporte sans inconvénient un chauffage à 40°. Son comportement vis-à-vis de l'éther peut être utilisé pour le diagnostic *du virus poliomyélitique*, spécifiquement réfractaire à ce solvant, tandis que la plupart des autres virus, tels que celui de *la grippe*, *des encéphalites* sont inactivés instantanément. Ce fait permet également de tirer des conclusions sur la structure chimique *du virus Pm*, qui semble être dépourvu de *lipides éthérosolubles.*

Son comportement vis-à-vis *du formol* est plus compliqué. On admet que *le virus Pm* réagit en principe comme les autres protéines, c'est-à-dire que suivant le pH, la réaction est inversée, ainsi que la vitesse de réaction. En milieu alcalin, l'effet du formol semble plus constant, de sorte qu'on peut diriger la force d'inactivation. Ainsi, le pouvoir virulent peut être détruit, alors que les propriétés antigéniques sont maintenues. Ces propriétés sont utilisées, comme nous le savons, pour la préparation des vaccins, mais les principes théoriques de ce processus sont encore peu élucidés.

*Le virus Pm* se comporte très différemment vis-à-vis *des désinfectants usuels.* D'après Schultz et Robinson, les produits suivants se sont montrés virulicides : *Grisoïdine Y*, *Rouge Congo* 4 B. *Sulfate de cuivre*, *Hexylrésorcine*, *Bichlorure de mercure*, *Mercurochrome*. *Bleu de méthylène*, *Sulfate d'Oxyquinoléine*, *Hydroxyde de potassium et Permanganate de potasse.* On peut y ajouter encore *la teinture d'iode et l'Ozone*, tandis que l'action *du Chlore* dépend de la concentration ionique du milieu et de la constitution du produit chloré employé.

### *Culture du virus de la poliomyélite :*

Dès la réussite de la transmission de la maladie au singe, on a tenté de cultiver le virus « *in vitro* ». En l'absence de cellules vivantes, les résultats furent naturellement négatifs. Dès 1913, Levaditi a essayé la culture en présence de plasma de lapin ensemencé avec des fragments de ganglions spinaux de singe poliomyélitique. Il a pu observer une multiplication des fibroplastes et le maintien de la virulence du virus à 37° pendant 21 jours. Par repiquages successifs, il a pu conserver la vitalité du virus pendant 5 passages, ainsi que sa virulence sur le singe.

D'autres essais ont été faits ensuite par Olitzky et Sabin qui utilisaient en dernier lieu *le liquide de Tyrode* en présence d'embryon humain prélevé par césarienne. Ces auteurs ont également pu maintenir la vitalité et la virulence de leur virus pendant 5 à 6 passages.

**Procédés actuels de culture :**

*Actuellement la culture est relativement facile par trois méthodes :*

*La première* consiste à utiliser la technique de Maitland, c'est-à-dire à cultiver en flacons d'Erlenmeyer un broyat de tissu embryonnaire hu-

main contenant ou non des cellules nerveuses (peau, rein ou utérus). Ces tissus sont mis dans un milieu nutritif formé de liquide de Tyrode ou de sérum ultra-filtré. Le virus se multiplie en 15 à 20 jours à 37°. Ce procédé n'a plus qu'un intérêt historique.

*La seconde méthode* emploie des tubes disposés sur des porte-tubes roulants. Un fragment de tissu est disposé dans le tube et incorporé à un caillot de plasma de poule recouvert de milieu nutritif contenant des antibiotiques. Le mouvement du porte-tube et le séjour à 37° favorisent la culture. En quelques jours, les cellules se multiplient; *le virus ou le matériel virolique* est alors introduit et prolifère dans la culture cellulaire fibroplastique ou épithéliale.

*La troisième méthode*, encore plus pratique, consiste à préparer une culture de tissu en couche monocellulaire, effectuée d'habitude en boîte de Roux. La culture monocellulaire est obtenue par l'action de la Trypsine. Au moyen de l'action enzymatique, les cellules sont séparées les unes des autres et se collent facilement sur le verre; elles se multiplient en présence de milieu nutritif (Tyrode ou sérum) et se rejoignent en formant un film monocellulaire continu. Le virus est introduit dans ce substrat et il se multiplie dans les cellules; il peut également se retrouver dans le milieu de culture ambiant.

Les cellules utilisées peuvent provenir de nombreux tissus. A l'origine, Enders a eu recours à un tissu embryonnaire humain. Actuellement, les cellules les plus utilisées sont celles de rein de singe ou les cellules cancéreuses provenant de cancers du col ou mammaires, désignées par « Hela » et « KB » d'après les initiales des malades sur lesquels ces cellules ont été prélevées en 1946 pour une première culture.

*Dans les deuxième et troisième procédés*, l'examen au microscope à petit grossissement permet de suivre l'effet cytopathogène déterminé par le virus poliomyélitique consistant en la dislocation du tissu cellulaire et en la lyse cellulaire consécutive.

**Intérêt des cultures tissulaires :**

Les deux derniers procédés ont de très grands avantages : Ils permettent de mettre en évidence le virus contenu à des doses beaucoup moindres dans les prélèvements par rapport à l'animal réceptif. Ils favorisent la multiplication des examens de diagnostic et c'est grâce à eux qu'on peut préciser la réalité de la présence régulière du virus dans les selles des malades et aussi chez les porteurs de germes. Ils se prêtent d'autre part à l'étude du pouvoir cytopathogène. Ils sont finalement capables de fournir une quantité importante de virus presque dépourvu de substance étrangère et donc particulièrement favorable à la préparation de vaccins. Enfin, ces deux techniques permettent *l'isolement et le typage des trois sortes de virus.*

Ici, une remarque s'impose : Il va de soi que les souches isolées sur des cultures à cellules cancéreuses ne pourront jamais être employées

pour des applications éventuelles à l'usage humain : préparation de vaccins, etc. La même remarque vaut également pour les souches provenant de milieux de culture additionnés de sérum, pour éviter des phénomènes anaphylactiques.

***Isolement du virus poliomyélitique :***

Pour l'isolement *des virus Pm* on emploie la méthode directe. Le matériel à examiner peut provenir :

— *de l'autopsie de sujets ayant succombé à la poliomyélite ;* les prélèvements peuvent être effectués sur la moelle épinière, la médulla ou les amygdales, sur les muqueuses intestinales, le contenu intestinal ou les ganglions mésentériques.

— *Il peut provenir également de cas de poliomyélite ou de porteurs de germes.* Dans ce cas, on s'adressera à des prélèvements de matières fécales, de frottis anaux, de résidus de gargarismes ou de frottis de l'arrière-gorge.

— Il peut aussi s'agir *de matériel de prélèvement dont l'origine humaine est inconnue*, telles qu'eaux usées, eaux d'égout, eaux potables, aliments et finalement prélèvements effectués sur des objets de contact.

Dans tous ces cas, il faut procéder à un enrichissement du matériel à examiner, qu'on effectue soit directement par centrifugation en présence d'antibiotiques et d'éther, soit par une concentration préalable dans le vide et à basse température.

Le matériel que l'on ne peut pas examiner immédiatement doit être congelé à —18° environ et peut être conservé ainsi indéfiniment.

Ayant exposé *les caractères morphologiques et culturaux et les procédés d'isolement du virus poliomyélitique*, nous tenons à rapporter dans le chapitre suivant quelques *données épidémiologiques de la poliomyélite.*

## CHAPITRE II

## ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA POLIOMYÉLITE

La conception actuelle du *problème de l'épidémiologie de la poliomyélite* a été établie par les faits suivants :

La découverte de la résistance marquée du virus dans le milieu extérieur, son élimination intestinale prolongée par les malades en état aigu ou latent, l'étude de l'immunité spontanée d'un grand nombre d'individus et finalement la découverte de la pluralité des types de virus à propriétés pathologiques et à comportement sensiblement analogues, mais immunologiquement distincts.

Bien que tous ces problèmes aient été résolus en grande partie, nous n'avons toujours pas de vue complète sur *l'épidémiologie et l'immunologie* de cette maladie. L'ensemble des constatations faites dans le monde entier jusqu'à présent permet de dégager les faits suivants :

*Le virus poliomyélitique* affecte particulièrement les régions de civilisation avancée ; la maladie sévit sous tous les climats, mais de préférence dans les régions froides et tempérées. Le caractère épidémique de cette virose augmente progressivement, de sorte qu'on voit actuellement de véritables foyers épidémiques, alors qu'autrefois les cas étaient plutôt isolés par région. Ce fait pourrait probablement être imputé à la facilité des transports et aux déplacements humains plus massifs. Malgré cette extension, *la poliomyélite* n'a pas pris jusqu'à présent le caractère pandémique des maladies virales habituelles, telles que *les grippes*, *rougeole*, *variole*, *fièvre aphteuse*, etc.

*La poliomyélite* est caractérisée par ses atteintes saisonnières, particulièrement en été ; dans nos régions en août, septembre et octobre, avec un maximum en septembre, et dans l'hémisphère sud en janvier, février et mars, avec un maximum en mars.

### *Problèmes de la contagion :*

L'étude épidémiologique de la poliomyélite montre : que sa transmission est liée à un facteur humain ; que la contagion des individus atteints se fait en général à la même source et à peu près simultanément. La durée d'incubation est comprise entre six et vingt jours. Même dans les l'épidémies très denses la pluralité des cas dans une même famille reste l'exception. Lorsque plusieurs cas éclatent dans la même famille,

l'intervalle moyen qui les sépare est de 4 à 9 jours, donc inférieur à l'incubation la plus courte de la maladie. D'autre part les cas graves et mortels se manifestent avant les cas bénins.

Contrairement aux autres maladies infectieuses, ni les conditions de logement, ni l'emplacement dans les agglomérations urbaines, ni la promiscuité des classes pauvres n'influent sur l'épidémie. Plusieurs théories ont été émises pour expliquer ces caractères paradoxaux.

**Sources de l'infection :**

Aucune preuve n'a pu être apportée jusqu'ici qu'il existe un autre réservoir permanent du virus *que l'homme*, ni de l'existence d'un agent animé intermédiaire. *La poliomyélite est essentiellement une maladie de l'homme*, et il existe des preuves incontestables qu'elle l'accompagne dans ses déplacements. L'homme est donc la source du virus, comme il en est le réservoir principal, sinon unique.

Les sources essentielles d'infection sont d'une part les sécrétions rhino-pharyngées et les expectorations, d'autre part les matières fécales et l'importance de ces deux origines est loin d'être égale.

Les méthodes d'isolement et de culture actuellement à notre disposition ont permis de déceler le virus chez des sujets en incubation ou atteints de poliomyélite, depuis 48 heures après les premiers symptômes jusqu'à la fin de la deuxième semaine de la maladie. Le virus peut alors être éliminé soit par les sécrétions naso-pharyngées, soit par le contenu intestinal ou encore par les deux à la fois. Cependant, dès l'éclosion de la maladie, le virus disparaît rapidement des voies aériennes supérieures et cette voie ne peut jouer dans la contagion qu'à la phase précédant la localisation neurotrope du virus. Elle est donc beaucop moins importante pour la propagation de la maladie que l'élimination intestinale. En effet, on a isolé le virus dans les selles jusqu'à 3 semaines avant l'apparition des symptômes, puis pendant la première quinzaine de la maladie apparente. La durée de l'élimination fécale peut s'étendre sur des semaines et même des mois. Les statistiques de Schabel et ses collaborateurs (11) montrent qu'au bout de 2 semaines 67 % des malades éliminent encore du virus : trois semaines après le début, ce taux est de 50 % environ et il tombe à 25 % après 5 à 6 semaines. Chez une certaine proportion, l'excrétion virale peut se poursuivre pendant 12 semaines. Lepine, Sedaillan et Sautter (12) admettent une durée d'élimination plus longue et un pourcentage plus important.

Dans les infections inapparentes, l'excrétion fécale est sensiblement identique, mais on ne connaît pas jusqu'ici d'excréteur chronique.

*Mode de pénétration des virus :*

L'ensemble de ces observations indique que la voie de pénétration la plus fréquente est *la voie digestive*. Le point de départ de l'infection se situerait dans le pharynx avec extension au reste du tube digestif à

partir duquel le virus est diffusé dans le milieu extérieur. Comme l'ont montré les auteurs américains au cours de différentes épidémies, la présence fécale du virus peut être la seule manifestation de l'infection poliomyélitique et de sa diffusion par contamination inter-humaine parmi une population où n'éclatera aucun cas de maladie apparente ni paralytique. Les mêmes auteurs ont montré l'importance du milieu familial et du contact étroit entre les individus pour la diffusion du virus, contact qui favorise cette diffusion d'abord dans le cercle familial, ensuite à distance. De tous les âges de la vie, *l'enfance*, avec son comportement insouciant de l'hygiène, court le plus grand risque de contacts répétés avec les individus d'un même groupe. Le nombre et l'âge des individus d'une famille joue donc un rôle important dans la contamination et également dans l'apparition d'une immunité naturelle; l'âge d'apparition des anticorps chez les enfants est d'autant plus tardif que la famille est réduite.

**Localisation du virus chez le sujet infecté :**

Landsteiner et Popper ont les premiers démontré la présence du virus dans *le système nerveux*, en transmettant la maladie au singe par inoculation de moelle épinière d'un enfant mort de poliomyélite. La conception du neurotropisme exclusif du virus repose sur leurs constatations. Elles ont été confirmées par les recherches d'autopsie et par des travaux expérimentaux sur le singe. Le virus se trouve constamment dans la moelle épinière et le long des cellules qui jalonnent l'axe moteur. On le trouve dans le bulbe, surtout dans les formes supérieures ou respiratoires. Au fur et à mesure que l'on s'élève dans l'axe neural, la présence du virus est de plus en plus inconstante. Dans les cas à évolution fatale rapide, on peut observer des infections du type « *neurostérilisant* » où la recherche du virus demeure négative, malgré des lésions histologiques nettes et typiques. Le virus peut également être rencontré dans les ganglions nerveux périphériques et en particulier dans les ganglions sympathiques du plexus solaire, des capsules surrénales et du cœur.

L'existence *d'une virémie, c'est-à-dire d'une septicémie virale* a été niée autrefois, mais elle ne peut plus faire de doute aujourd'hui, à la suite des lésions cardiaques et, d'autre part, de l'inoculation de sang poliomyélitique au *singe Cynomolbus* par voie parentérale. La mise en évidence du virus dans le sang de malades est rare, mais la théorie de la transmission *du virus Pm* par la voie digestive semble prouver son passage à travers le système sanguin. De nombreux travaux ont donc eu lieu pour rechercher le virus dans les tissus extra-neuraux. Il a pu être retrouvé avec une fréquence relativement élevée dans les parois des intestins, les plaques de Peyer, dans les ganglions mésentériques et plus exceptionnellement dans d'autres formations lymphoïdes : amygdales, ganglions périphériques. La constatation du virus dans les tissus non nerveux soulève trois problèmes, à savoir :

— *Existe-t-il une poliomyélite extra-neurale ?*

Parmi les symptômes qui constituent la « *maladie mineure* » des auteurs américains, certains des symptômes, tels que diarrhée, vomissements, etc., peuvent être consécutifs aussi bien à une atteinte locale des intestins qu'à une réaction de nature atténuée du système nerveux central. Bien qu'en culture sur tissu, le virus puisse pousser sur des cellules dérivant de la peau, du testicule ou du rein, on n'a jamais décrit d'éruption, d'orchite ou de néphrite attribuables au virus, de sorte qu'en définitive, la seule manifestation extra-neurale sur laquelle on puisse discuter est l'existence d'une *myocardite poliomyélitique*. L'existence d'altérations graves du myocarde d'origine non nerveuse a été démontrée par un grand nombre d'auteurs. Cependant, les preuves d'une myocardite survenant indépendamment de la localisation du virus au système nerveux central, n'ont pas encore pu être fournies.

— *Où a lieu la multiplication du virus ?*

Nous avons vu que de grandes quantités de virus sont continuellement éliminées par les porteurs de germes, à l'occasion d'infections inapparentes ou pendant la convalescence de la maladie. Les quantités de virus trouvées dans le système nerveux sont relativement faibles et il est exclu que chez les porteurs de virus atteints d'affections inapparentes, le système nerveux central soit à l'origine de la multiplication des virus. Il n'y a pas d'accord unanime sur le lieu où se produit la première multiplication du *virus poliomyélitique*. Pour Sabin, elle a lieu dans les cellules mêmes de la muqueuse intestinale. La virulence des matières fécales résulterait de l'éclatement et de la desquamation de ces cellules. Pour Bodian (13) et ses élèves, ce rôle est dévolu au système lymphatique des plaques de Peyer et des ganglions mésentériques où l'on trouve effectivement le virus avec une grande fréquence lors des autopsies. Pour Faber (14) et ses élèves, ce serait d'emblée dans les terminaisons nerveuses de la paroi de l'intestin qu'aurait lieu la fixation primitive du virus, suivie ou non de multiplication et de propagation par voie neurale directe. Par contre, Bodian, Sabin et la plupart des autres virologues considèrent que l'infection poliomyélitique du système nerveux central est secondaire et obligatoirement précédée d'une virémie.

Le virus se multipliant en dehors du système nerveux central, on peut se demander par quelle voie il peut atteindre ce dernier. Pour Bodian, s'appuyant sur des expériences faites sur le chimpanzé, le virus se multiplie d'abord *dans les amygdales*, d'où il émigre dans le tractus digestif pour infecter secondairement les plaques de Peyer : puis à partir de là, le virus envahit la voie sanguine et c'est par cette voie que le système nerveux est finalement contaminé lorsque la maladie paralytique doit éclater.

Pour Faber, au contraire, la transmission du virus se fait exclusivement par la voie neurotrope. Cet auteur s'appuie surtout sur des arguments tirés d'expériences effectuées après ablation des amygdales.

Pour Lepine, *le rôle des amygdales semble incontestable* et il se base sur des observations cliniques et expérimentales. Il cite une famille de

sept enfants, dont cinq ont été opérés le même jour pour amygdalectomie. Par la suite, tous les cinq font *une poliomyélite bulbaire mortelle*, alors que les deux enfants non opérés, ainsi que leurs cousins qui furent tous trouvés porteurs de virus, demeuraient en bonne santé. On conçoit que l'infection poliomyélitique serait probablement demeurée totalement inapparente, sans le traumatisme chirurgical localement créé par la tonsillectomie. La conclusion pratique à tirer de ces observations est de ne pas pratiquer l'ablation des amygdales en temps et en milieu épidémique.

D'autre part, la fréquence de la poliomyélite chez les anciens tonsillectomisés est beaucoup plus grande, d'après un très grand nombre *d'auteurs américains, français et allemands*. De l'ensemble de ces résultats statistiques, on peut conclure que les risques de voir apparaître une poliomyélite bulbaire chez un enfant sont 3 à 4 fois plus élevés si l'enfant a été amygdalectomisé.

On sait que *le tissu lymphoïde tonsillaire* est l'un des lieux de multiplication essentiels des virus. On conçoit facilement que le traumatisme chirurgical localement créé par la tonsillectomie soit susceptible de déclencher une poliomyélite d'autant plus grave que le virus est porté par l'opération directement au contact des terminaisons nerveuses conduisant au bulbe, ce qui détermine habituellement une poliomyélite à forme respiratoire avec évolution foudroyante.

**Autres causes traumatiques :**

Une infection inapparente peut être transformée en infection paralytique sous l'influence de traumatismes déterminés par une injection : sont actifs en ce cas surtout les injections intramusculaires de produits irritants (*vaccins, précipités à l'alun, sels de bismuth*). Il est exceptionnel que les injections sous-cutanées jouent un rôle provocateur, ainsi que des vaccins solubles.

Parmi *les différents antigènes*, il semble certain que *l'antigène du coquelucheux* a une influence sensibilisante vis-à-vis du virus de la poliomyélite. Il est donc préférable de ne pas procéder *à la vaccination anticoquelucheuse*, surtout si elle doit être faite par voie intramusculaire, en temps et en zone d'épidémie poliomyélitique. Par contre, pour les vaccinations diphtérie-tétanose et T.A.B., il n'y a pas de raison de renoncer au bénéfice des vaccinations ; le danger de la diphtérie, par exemple, est infiniment plus grand que le risque hypothétique de déclencher une poliomyélite. Dans de nombreux cas, la poliomyélite a été provoquée, non pas par l'injection vaccinale elle-même, mais par l'aiguille, l'injection intramusculaire entraînant dans les profondeurs des virus qui pouvaient se trouver en surface sur la peau contaminée, d'où la nécessité d'un matériel d'injection strictement aseptique et d'une désinfection soigneuse de la peau par *l'alcool iodé* : l'alcool seul ou l'éther sont sans action sur le virus d'après l'avis de Lepine.

On sait également que la poliomyélite est moins fréquente dans les régions insalubres que dans les milieux à hygiène plus poussée, ceci

étant dû à *l'immunisation spontanée par voie naturelle*, immunisation qui se réalise surtout chez les jeunes enfants.

Une autre cause pouvant expliquer la répartition inégale et hasardeuse de la poliomyélite semble être l'inaptitude à l'immunisation présentée par certains sujets. En effet, LEPINE a comparé le taux des anticorps chez des sujets qui avaient contracté récemment la poliomyélite et chez des anciens paralytiques. Il a observé pour tous les groupes d'âge une chute progressive du taux des anticorps, alors que chez les sujets normaux le niveau des anticorps, plus élevé déjà au départ, se maintient et augmente avec le temps. Il faut en conclure que ce n'est pas la maladie qui diminue les anticorps, mais que deviennent malades parmi une population les sujets qui sont moins aptes que les autres à s'immuniser contre l'infection à former et à conserver les anticorps spécifiques.

***Épidémiologie proprement dite :***

La poliomyélite n'est pas une maladie de date récente : en effet, des squelettes trouvés *en Égypte*, datant du 4e siècle avant J.-C. présentaient des déformations osseuses caractéristiques des troubles trophiques post-poliomyélitiques. C'est à la fin du 19e siècle que la poliomyélite a fait son apparition *en Europe* sous forme para-épidémique. En 1840 la maladie fut pour la première fois décrite par HEINE de Stuttgart. Par la suite, elle s'est dispersée dans le monde entier. La morbidité la plus considérable fut enregistrée dans les pays scandinaves et l'incidence diminue progressivement vers l'équateur.

C'est en 1881 et 1887 que les premières petites épidémies sont notées *en Norvège*, puis en 1905 on enregistre 719 cas, dont 111 mortels. Dans cette période, c'est surtout MEDIN qui a étudié ces premières épidémies, d'où le nom de « *maladie de Heine-Medin* » qu'on donne encore à la poliomyélite. En 1905 on cite également une épidémie *en Suède*, avec 1 036 cas et 155 décès. En 1911, éclate une nouvelle épidémie *en Scandinavie* avec 3 646 cas, puis en 1919, 820 cas et en 1929 on cite 937 cas.

*En Autriche*, la première épidémie a apparu en 1908 avec 266 cas. *En Angleterre* 729 cas en 1913, puis 200 à 600 cas, suivant les années jusqu'en 1926, où l'on note une nouvelle recrudescence avec 2 940 cas. *En Allemagne*, on dénombre 2 000 cas environ *dans la Ruhr* en 1909, 1 660 cas en 1926, 2 782 cas en 1927 avec un foyer principal *en Saxe*. *En Belgique et en Hollande*, la poliomyélite sévit surtout à dater de 1911. En 1929, le nombre des cas observés est de 355. *En Roumanie*, trois vagues épidémiques se sont succédé en 1927, 1928 et 1929, avec respectivement 2 196, 416 et 51 cas. *En Grèce*, une petite épidémie a éclaté en 1930, avec environ 300 cas. *Aux États-Unis*, la poliomyélite a fait les premiers ravages en 1894 : en 1906 on relevait environ 2 500 cas *à New York* et en 1921 il y eut une poussée considérable avec 6 253 cas, suivie d'une seconde attaque en 1924 et 1925 où l'on note entre 5 000 et 6 000 cas, puis en 1927 on dénombre *à New York* 10 151 cas. *En Australie*, la première épidémie a éclaté en 1930 avec 272 cas, mais en 1937-38 ce continent est ravagé par une grave et importante épidémie qui a été très étudiée par BURNET *et ses collaborateurs* (15).

*En France* les cas connus avant 1914 s'élèvent à 130, dont une soixantaine ont été enregistrés par NETTER de 1909 à 1911. En 1886, CORDIER, de Sainte-Foy l'Argentière, attira déjà l'attention sur une petite épidémie de paralysie infantile infectieuse. Jusqu'à 1919, on n'a pu noter aucune épidémie véritable ; de 1919 à 1929, le chiffre des cas déclarés s'élève à 2 030; puis en 1930, *la France* paraît être le pays le plus atteint d'Europe avec 1 530 cas déclarés, surtout dus à une épidémie *en Alsace*. En 1931, on enregistre 450 cas. En 1938, une épidémie sévit dans *la région lyonnaise*; en 1943, une importante épidémie éclate dans *le Centre* et l'incidence de la poliomyélite s'élève à tout le pays. On possède des renseignements épidémiologiques nettement établis sur un millier de cas environ, renseignements consécutifs *aux thèses de* SCHREIBER (*Paris*, 1911), FINEL-GIRY (1910) et LAFARGE (*Lyon*, 1934). Ainsi, la poliomyélite paraît avoir donné *en France* deux flambées épidémiques en 1908 et 1929, suivies d'une période de déclin. Il n'y a pas de région *en France* plus sujette que les autres à la poliomyélite. Certains régions paraissent avoir été plus particulièrement atteintes : *le Bassin de la Garonne*, frappé en 1906 jusqu'à 1910, *l'Anjou*, plus spécialement touché en 1910-1925 et 1930 ; puis *la région parisienne*, qui paraît surtout être une région d'endémicité avec recrudescence plus ou moins marquée des cas sporadiques. L'année 1943 est marquée par une épidémie importante : 479 cas en août et 1800 cas en tout officiellement déclarés. Cette épidémie a surtout touché *l'Allier, le Maine-et-Loir, la Haute-Garonne et le Vaucluse*. Les départements avoisinants furent rapidement atteints et un second foyer est apparu *dans l'Est*.

Nous rapportons ici les statistiques que GRUMBACH (16) a empruntées aux *Annales Statistiques Fédérales Suisses*. Il compare les cas de poliomyélite de 1939 à 1945 avec ceux de 1952 à 1958.

TABLEAU N° 1

| Années | Poliomyélite | | Mortalité |
|---|---|---|---|
| | Atteintes | Mortalité | % |
| 1939 | 521 | 53 | 10,17 |
| 1940 | 237 | 34 | 14,34 |
| 1941 | 1 479 | 149 | 10,07 |
| 1942 | 1 123 | 40 | 3,56 |
| 1943 | 170 | 34 | 10,00 |
| 1944 | 142 | 27 | 19,01 |
| 1945 | 1793 | 224 | 12.49 |
| 1952 | 579 | 54 | 9,32 |
| 1953 | 764 | 63 | 8,24 |
| 1954 | 1 628 | 114 | 7,00 |
| 1955 | 919 | 60 | 6,52 |
| 1956 | 973 | 59 | 6,06 |
| 1957 | 333 | 42 | 12,61 |
| 1958 | 126 | 17 | 1,34 |

L'auteur a encore établi une sélection de la mortalité des cas de poliomyélite de 1957 et 1958, suivant l'âge :

TABLEAU N° 2

| Année | Ages des sujets morts de la poliomyélite : | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1-4 | 5-9 | 10-14 | 15-19 | + de 20 | Total |
| 1957 | — | 5 | 3 | 2 | 5 | 27 | 42 |
| 1958 | 2 | 2 | — | 1 | 1 | 11 | 17 |

Grumbach mentionne dans son travail qu'il est indubitable que la régression de la morbidité et de la mortalité de *la tuberculose, de la poliomyélite et de la diphtérie* et la disparition de la variole, contrôlées *en Suisse*, sont trop récentes pour permettre de conclure à la tendance à une disparition totale de ces maladies. Cependant les conséquences de cette régression sont la disparition de l'endémicité et par conséquent l'apparition de générations qui n'ont pas subi la sélection de résistants et ne possèdent pas *d'immunité passive* en ce qui concerne les nourrissons, ni d'*immunité active, spontanée* pour les adultes par passage ou contact du virus.

Si l'on considère de plus l'augmentation massive des moyens de circulation et l'impossibilité pratique d'appliquer des mesures de quarantaine strictes, on se rend compte de la nécessité de suppléer à *la protection naturelle défaillante.*

Grumbach estime que l'on pourrait renoncer à la vaccination obligatoire *en Suisse contre la fièvre jaune et les salmonelloses*, mais que celle contre *la coqueluche, la tuberculose, la poliomyélite, la diphtérie et le tétanos* est absolument nécessaire et ceci non seulement à cause du danger actuel que présentent ces infections, mais surtout à cause de celui qui résulte de leur régression progressive.

Ce postulat de l'*éminent hygiéniste zurichois* a été pleinement adopté par le *Service de Santé Fédéral*, comme le prouve la statistique que nous avons pu établir pour le *Canton d'Argovie :*

TABLEAU N° 3

| Année | Nombre de cas vaccinés | Vaccin employé | Mode de vaccination |
|---|---|---|---|
| 1956 | 4 000 | Salk | 3 injections |
| 1957 | 63 000 | Salk | 3 injections |
| 1958 | 12 000 | Salk | 3 injections |
| 1959 | 5 200 | Salk | 3 injections |
| 1960 | 6 000 | Salk | 3 injections |
| 1960 | 20 000 | Koprowski | 3 ingestions |
| 1961 | 61 000 | Koprowski | 3 ingestions |
| 1962 | 45 000 | Sabin | 3 ingestions |

Suite à notre enquête dans *le Canton d'Argovie*, ces vaccinations n'ont donné lieu, à notre connaissance, à aucun accident notable chez les vaccinés ni à une contamination de contact ou de porteurs de germes.

Etudions encore, au point de vue épidémiologique l'*influence de l'âge, du sexe, des races et des groupes sanguins.*

En ce qui concerne l'*influence de l'âge*, nous savons que la poliomyélite peut survenir entre le 2e mois de la vie et jusqu'à 70 ans: elle frappe surtout les enfants de 2 mois à 6 ans et sa morbidité commence à diminuer après la 10e année. En se rapportant aux cas signalés de 1888 à 1934, on peut établir la statistique suivante *pour la France* : 63,1 % de cas entre le 2e mois et 6 ans; 21,5 % de cas entre 6 et 14 ans ; 7,8 % de cas de 14 à 20 ans et 7,4 % de cas après 20 ans.

*Dans l'épidémie du Bas-Rhin*, les chiffres relevés sont les suivants :

Age préscolaire = 0 à 6 ans : 84 %

Age scolaire = 6 à 14 ans : 11 %

Age postscolaire = 15 ans et plus : 5 %

Les chiffres sont sensiblement pareils dans les autres pays. Cependant, dans les épidémies plus récentes, la morbidité des sujets dépassant 15 ans est nettement augmentée. Il semble qu'en dehors des épidémies, l'incidence est partout la même.

Les garçons sont un peu plus atteints que les filles : ainsi Schreiber et Lafarge notent 55 % de garçons contre 45 % de filles; mais les formes paralytiques sont plus rares chez les garçons (29 %) que chez les filles (40 %). La mortalité serait en sens inverse, avec des exceptions cependant notées *en Amérique et en Suisse.*

*Au sujet des races*, toutes sont réceptives, quoique *les Jaunes et les Noirs* le soient moins que *les Blancs.* Dans *une statistique américaine* on trouve le pourcentage suivant : *Écossais, Islandais et Allemands d'origine* : 1 % ; *Scandinaves, Français, Russes et Autrichiens* : 4 à 7 %.

*L'influence des groupes sanguins* a été étudiée *en Alsace* par Kossowitch et Grooten: ils notent pendant l'épidémie 56,4 % d'atteintes chez les sujets du groupe A, 14,5 % chez ceux du groupe B, 29,1 % chez ceux du groupe 0. Dans d'autres pays, ce sont les sujets du groupe B qui ont fourni le maximum d'atteintes, ceci surtout dans *les pays scandinaves.* Nous supposons cependant que ce facteur est peu important, puisqu'il dépend sûrement du pourcentage de répartition des divers groupes sanguins dans les régions envisagées.

**La mortalité :**

Elle varie en moyenne suivant les statistiques de 10 à 16 %. *Aux États-Unis* elle est plus élevée, montant jusqu'à 28 %. Lors *des épi-*

*démies françaises*, on a noté une très grande variabilité de la mortalité; sur 329 cas étudiés *en Alsace*, on note 31 décès, soit 9,4 %. Mais certains foyers ont une mortalité nulle (9 foyers sur 25, soit 39 %); d'autres ont une mortalité variant de 1 à 10 % (4 foyers, soit 17,4 %) d'autres une mortalité variant de 11 à 20 % (4 foyers, soit 17,4 %) et six foyers (26 %) ont eu une mortalité supérieure à 25 %.

Après cet exposé succinct concernant l'épidémiologie de la poliomyélite, nous tenons à rapporter dans le chapitre suivant les données actuelles des techniques vaccinales antipoliomyélitiques.

## CHAPITRE III

## LA VACCINATION ANTIPOLIOMYÉLITIQUE

En l'absence actuelle d'une *chimiothérapie prophylactique et thérapeutique spécifique*, c'est vers les méthodes immunologiques que s'est orientée la prophylaxie de *la poliomyélite.*

Avant de connaître les vaccins proprement dits, on a eu recours à une prophylaxie passive au moyen de *γ-globulines spécifiques.* Il est en effet possible de protéger le singe expérimentalement par une injection préventive de *sérum humain provenant de sujets immunisés*, mais il s'agit d'une protection de courte durée, qui souvent ne dépasse pas 24 heures. Avec des *sérums d'animaux immunisés*, les résultats ne sont pas meilleurs. Le grand nombre de travaux qui ont été effectués ont prouvé en définitive que la *sérothérapie de la poliomyélite* n'a transformé ni l'évolution ni le pronostic. On peut donc conclure que l'emploi *des γ-globulines spécifiques* s'est soldé par un échec et depuis 1954, la méthode a pratiquement été abandonnée, même *en Amérique.*

Actuellement on a recours à la *prophylaxie active*, c'est-à-dire *la vaccination.* La culture « *in vitro* » *du virus de la poliomyélite découvert par* Enders, Weller et Robins, a rendu possible l'obtention de quantités illimitées de virus dans des milieux relativement pauvres en protéines, d'où la possibilité de préparer des *vaccins contre la poliomyélite.* Trois voies théoriques sont possibles à la réalisation pratique de ces vaccins; ce sont :

— *les vaccins sensibilisés*, c'est-à-dire la vaccination obtenue soit par injection de vaccin-virus neutralisé, soit par injection d'un virus actif sous le couvert d'une γ-protéine passive.

— *Les vaccins atténués, ou vaccins vivants.*

— *Les vaccins inactivés ou vaccins tués.*

Un ensemble de recherches considérable, parfois soutenu par des moyens puissants, a été accompli dans les trois directions possibles. Les résultats obtenus permettent les conclusions suivantes :

### *Vaccins sensibilisés :*

On sait que les nourrissons sont immunisés par le passage placentaire des anticorps de la mère ; on a donc essayé de vacciner ces enfants par injection d'un mélange *virus-vaccin neutralisé*, soit par administra-

tion d'un *virus atténué*. On a essayé la même technique en protégeant encore les enfants par injection de *γ-globulines*. Les deux méthodes ont donné des résultats décevants, puisqu'elles ne sont ni sûres, ni efficaces. Si l'on emploie des souches très virulentes neutralisées « *in vitro* » ou « *in vivo* » il peut se produire une dissociation des souches amenant des poliomyélites paralytiques. Si l'on administre un virus très atténué à un sujet protégé par l'*immunité passive*, l'organisme déjà protégé réagit peu, et le taux d'anticorps sera faible ou nul. On voit que l'immunisation artificielle avec des virus sensibilisés ou atténués, n'est pas comparable à *l'immunisation naturelle spontanée*, qui s'effectue par des atteintes répétées de l'organisme par des virus naturellement atténués ou à doses très faibles.

### *Vaccins à virus atténués (vaccins vivants) :*

Le principe de la préparation de ces vaccins repose sur le fait de l'existence de *virus non neurotropes, mais antigéniques*. Ce fait a été mis en évidence en 1952 par ENDERS qui a obtenu un virus du type I dépourvu de son pouvoir paralysant par une série de passages sur culture de *cellules humaines d'origine extra-nerveuse*. Un grand nombre d'auteurs a utilisé ce type I pour la préparation de vaccins atténués: nous citons surtout SABIN et ses collaborateurs (17), ainsi que KOPROWSKI. D'autres auteurs ont eu recours *au type* II *désensibilisé pour le système nerveux* par passage sur le hamster ou par ovoculture. Toutes ces souches semblent de prime abord se prêter très bien à la vaccination des sujets par la voie buccale. Comme nous le verrons cette administration est inoffensive et est suivie, au bout d'un certain temps, de l'apparition d'anticorps correspondant à la souche inoculée. Elle détermine le plus souvent chez les sujets ou les animaux possédant déjà *un niveau décelable d'anticorps* un effet de rappel presque immédiat et qui, tout en s'exerçant principalement vis-à-vis du *type homologue*, relève également, mais à un degré moindre, le niveau des *anticorps hétérologues* préexistants. Cependant, le virus atténué s'adapte à l'intestin, s'y fixe, et pourrait, après un temps plus ou moins long, récupérer son pouvoir cytopathogène: il est toujours éliminé par les selles. Ainsi une partie du virus administré et qui gagne l'intestin, quelle que soit la voie d'introduction, tend à s'y retransformer en souche active et peut éventuellement présenter un retour partiel à la virulence initiale de la souche, créant ainsi des porteurs de germes. La vaccination par *virus vivant atténué* ne paraît donc se justifier que :

— si l'on vaccine simultanément la totalité d'une population ;

— si, en présence d'une épidémie créée par un virus hautement dangereux, on désire diffuser rapidement un virus atténué « *d'un autre type* », qui élimine par interférence le virus le plus dangereux; dans nos régions, ce serait le type II qui serait le plus recommandable, vu sa rareté actuelle et son efficacité dans la lutte de concurrence vitale avec les autres souches.

— Si l'on opère dans des régions où circulent constamment des virus ayant un caractère d'agressivité marqué et où les conditions économiques ne permettent pas la vaccination par vaccin inactivé, nécessitant des injections répétées et des injections de rappel, comme nous allons le voir. Nous aurons l'occasion de revenir sur ces problèmes.

Il faut noter cependant que *cette vaccination au virus atténué semble être la seule durable*, immunisant pour toute la vie.

### *Vaccins à virus inactivés (vaccins tués) :*

Avant l'ère des cultures de tissus on avait préparé des vaccins à *virus inactivés* à partir du système nerveux de singe. Si ces vaccins sont aujourd'hui sans intérêt, ils ont au moins permis de mettre en évidence que le virus est apte à servir d'*antigène actif*, à condition d'employer des quantités suffisantes et, d'autre part, cette technique a montré la grande résistance du virus au procédé d'inactivation.

Dès l'apparition de la culture du virus « *in vitro* », Miss I. Morgan (1949) a montré la possibilité de vacciner le singe avec *des extraits formolés* de ces cultures ; par la suite, Salk, auteur *d'un vaccin efficace contre la grippe*, a mis au point un vaccin inactivé pouvant être produit industriellement. Il a utilisé pour la culture *des virus Pm* des cellules épithéliales de rein de singe: en même temps, différents autres auteurs ont essayé d'obtenir des cultures luxuriantes au moyen d'autres tissus : testicules de singe par Syverton *et ses collaborateurs*, embryon humain par Enders *et ses collaborateurs* (18), amygdales humaines (Lepine *et coll.*). Certains auteurs emploient le rein sous forme de fragment en suspension selon la technique de Maytland, d'autres préfèrent employer des couches monocellulaires de cellules de rein trypsinées selon la méthode de Dulbecco et Vogt. Salk a effectué en 1954 les premières applications à l'homme de *son vaccin antipoliomyélitique inactivé*, et a constaté une nette augmentation du taux d'*anticorps spécifiques*. Ces essais ont été répétés en 1955 sur une plus grande échelle et ont permis d'établir la validité de la méthode.

Les différents *vaccins inactivés contre la poliomyélite* actuellement employés sont tous, sans exception, fabriqués à partir des virus *des trois types de poliomyélite*, obtenus par culture sur cellule de rein de singe en couche monocellulaire ou en suspension dans un milieu synthétique (*Tyrode*) ou semi-synthétique, renfermant ou non du sérum et additionné d'*antibiotiques*, en particulier *de Pénicilline et de Streptomycine*. Le vaccin américain type Salk emploie les souches des trois types de virus, mais en remplaçant les *souches types* : *Brunhilde* pour le type I, *Lansing* pour le type II *et Léon* pour le type III, par trois souches déjà adaptées à la culture des tissus et de ce fait susceptibles d'un rendement appréciable. Ce sont des souches *Mahoney*, *Mef* I *de van* Rooyen *et Saukett* pour les types I, II et III respectivement. Seuls les vaccins fa-

briqués *aux États-Unis* renferment encore de la souche *Mahoney du type* I, rendu responsable des accidents de 1955 en raison de la haute virulence qu'elle présente par la voie sous-cutanée et qu'elle a conservée malgré son adaptation par cultures en tissus.

*Les vaccins anglo-saxons et scandinaves* utilisent généralement la souche dite « *Brunenders* » (mutation de la couche *Brunhilde* par Enders). D'autres vaccins, surtout *en France et en Belgique*, emploie la souche 1342 de Lépine hautement antigénique et dépourvue de pouvoir pathogène. *Pour les types* II et III, il est assez facile d'obtenir des souches à pouvoir pathogène réduit et *le type* III est toujours celui dont la valeur antigénique est la plus faible.

A partir de la récolte des virus, les techniques de préparation du vaccin diffèrent selon qu'elles suivent strictement *la méthode de* Salk ou qu'elles s'en écartent plus ou moins radicalement. *La technique originelle de* Salk comporte le traitement des virus par le formol à 1 4 000 à la température de 37° à pH = 7,0. Remaniée à la suite des accidents de 1955, elle comprend aujourd'hui en outre *des filtrations sur bougie ultrafine* avant et après la période d'inactivation et la prolongation du séjour à l'étuve de 6 à 12 jours suivant les cas. Lorsqu'on constate une survie du virus on répète éventuellement un second traitement semblable.

*Les autres méthodes* ont pour but d'augmenter *le facteur de sécurité du vaccin.* L'inactivation complète du virus *par le formol* peut être obtenue en prolongeant son action à basse température (Gard, 1955) ou en associant *à l'action du formol un second agent inactivant : rayons* UV (Park et Davis), *β-propiolactone* (Lépine).

A titre documentaire, nous tenons à rapporter ici la technique de préparation *du vaccin antipoliomyélitique de l'Institut Pasteur.* Il est constitué par un extrait de culture *des trois types de virus Pm, inactivés par le formol et la β-propiolactone.* Les souches entrant dans sa composition répondent à chacun des trois types antigéniques actuellement reconnus, responsables de la poliomyélite. Ces souches ont *un pouvoir antigénique élevé et ne sont pas pathogènes* par la voie sous-cutanée ou intramusculaire. Lépine veut ainsi sauvegarder l'efficacité et la sécurité; tous les lots de fabrication sont titrés quant à leur pouvoir antigénique sur *des singes africains cynocephalus*, ceci pour contrôler le pouvoir antigénique, ajuster les titres et contrôler *l'absence de virus Mahoney.*

Les virus sont cultivés sur un milieu entièrement synthétique, il y a donc *absence de protéines sériques* dans le vaccin. Lepine renonce à la filtration du virus sur bougie ultrafine pour éviter la perte d'antigène et, *pour éliminer des protéines cellulaires* dans le produit final, il procède à l'adsorption de la culture sur résine synthétique.

L'inactivation s'effectue en deux temps par l'action ménagée de deux antiseptiques à dose réduite : *le formol et le β-propiolactone.* De cette façon, le pouvoir antigénique n'est pas réduit par l'action prolongée du formol et par le séjour à l'étuve. Industriellement cette technique achève

l'inactivation en 72 heures, d'où gain de temps et l'on évite un éventuel deuxième traitement et des filtrations supplémentaires.

Finalement, il faut insister sur le fait que *le vaccin final polyvalent* est préparé en mélangeant les trois lots monovalents, mélange qui est dosé par rapport au pouvoir antigénique de chacun des trois lots titrés sur l'animal. On obtient ainsi une stabilisation régulière des vaccins mis en circulation.

**Posologie et mode d'administration :**

Le vaccin doit être administré exclusivement *par voie sous-cutanée*, par exemple dans la fosse sous-épineuse ou dans le tissu sous-cutané de la paroi abdominale. Ces injections ne donnent habituellement aucune réaction locale ni générale. *La vaccination compte trois injections.* La quantité à injecter chaque fois correspond au contenu d'une ampoule : 1 cc. Les trois injections seront faites en laissant entre chacune d'elles un intervalle d'au moins 3 semaines à un mois.

*La protection contre l'infection poliomyélitique* débute environ 8 jours après la deuxième injection ; la troisième injection est nécessaire pour renforcer cette action et lui assurer une durée satisfaisante. Si, pour une raison quelconque la vaccination a été interrompue après la première ou la seconde injection, il n'est pas nécessaire de recommencer la série si l'intervalle entre la première et la seconde piqûre n'est pas supérieur à trois mois, ni celui entre la 2e et la 3e injection supérieur à 7 mois.

Il est recommandé de faire *une injection unique de rappel* au bout d'un an environ (ampoule de 1,5 cc en conditionnement spécial).

*La vaccination antipoliomyélitique* peut être pratiquée à tout âge : particulièrement bien tolérée, elle n'a pas de contre-indications particulières. Les jeunes enfants étant les plus exposés, il y a avantage à pratiquer la première vaccination après l'âge de 6 mois ou au cours de la 2e année de vie.

Les résultats de la vaccination sont statistiquement très favorables, mais la protection des vaccinés n'est pas totale ; parmi *les poliomyélitiques* on trouve actuellement un vacciné pour cinq non-vaccinés. Chez les vaccinés, la poliomyélite est très exceptionnellement paralytique. Chez les sujets déjà atteints d'infection intestinale inapparente, la vaccination n'a pas produit d'accident. L'opportunité des vaccinations de rappel est couramment admise actuellement ; de toute façon, il semble qu'il ne faut pas escompter pour la vaccination une durée de protection régulièrement supérieure à un an. Il est encore trop tôt pour savoir de façon rigoureuse si l'immunité de rappel a une durée similaire ou plus longue.

Cet exposé général de *l'épidémiologie de la poliomyélite et de sa vaccination*, permet de se rendre compte de *l'importance des méthodes d'investigation analytique pour le contrôle de l'état d'immunité naturelle ou provoquée.* Nous avons actuellement à notre disposition *des méthodes séro-*

*logiques* : en effet, depuis qu'il est possible de procéder à des cultures sur tissu du *virus poliomyélitique*, on peut titrer le taux des anticorps par rapport à des doses constantes de virus inoculé. Cette méthode permet donc de mettre en évidence *les anticorps neutralisants*. D'autre part, nous avons *la réaction de déviation du complément*, dont l'emploi s'est généralisé grâce à la possibilité de la culture sur tissu et de la préparation relativement aisée, par conséquent, *des antigènes*. Ces deux réactions permettent de différencier *l'état d'immunité d'un état infectieux à son début*, puisque le *test de neutralisation* reste positif plus longtemps dans le premier cas. D'autre part, ces méthodes d'investigation ont acquis une valeur remarquable pour *le contrôle de la durée de l'immunité provoquée*. A ce sujet, il faut faire remarquer que la mise en évidence de ces anticorps ne prouve pas forcément un état d'immunité, ni le manque d'anticorps, l'absence de cet état. Ce fait a été relevé par Steigman et Sabin (19).

Retenons encore qu'en général, *les anticorps sont spécifiques du type viral infectieux*. Cependant, dans un certain nombre de cas, on a pu prouver que lors d'une infection *du type* I, il existait également des anticorps *du type* II. Sabin et son école ont pu montrer que *ces anticorps hétérotypiques* disparaissent plus vite de la circulation sanguine que *les anticorps neutralisants homotypiques*. Casals, Olitzky et Sabin (20) ont pu prouver l'existence *d'anticorps hétérotypiques de déviation du complément pour les trois types du virus Pm*. Ce fait peut contribuer à un effet stimulateur, « *booster-effect* », d'une immunité secondaire contre un deuxième type viral dans une région infectée essentiellement par un autre type.

Toutes ces données prouvent l'importance *des méthodes analytiques actuellement à notre disposition et comme le test de neutralisation* ne peut être réservé qu'à des laboratoires spécialisés, nous avons pensé devoir étudier l'immunité provoquée par d'autres techniques. Gerda Ritschel-Beurlin (21) a éprouvé *les réactions de précipitation et nous avons simultanément essayé d'étudier la validité des méthodes de déviation du complément et d'immuno-électrophorèse*: la modification des électrophorégrammes pourrait éventuellement contribuer à contrôler l'état d'une immunité et à diagnostiquer le type de l'agent infectieux grâce à l'emploi d'antigènes atténués très concentrés.

DEUXIÈME PARTIE

# TRAVAUX PERSONNELS

## CHAPITRE IV

## ÉTUDE ÉLECTROPHORÉTIQUE DU SÉRUM DE LAPINS NORMAUX ET VACCINÉS CONTRE LA POLIOMYÉLITE

Pour effectuer nos expériences nous avons eu recours *aux lapins*; mentionnons tout de suite que le lapin, *naturellement réfractaire à la poliomyélite*, élabore difficilement *des anticorps spécifiques*. Pour déceler ces anticorps, on peut avoir recours *au test de neutralisation, de précipitation et à la réaction de déviation du complément*. Nous avons eu l'idée de contrôler l'apparition de l'immunité par *la modification du diagramme électrophorétique*. On sait en effet que *la formation d'anticorps* est accompagnée d'une augmentation *des γ-globulines et d'une modification du rapport γ-globulines sérines-albumines*. Comme nous n'étions pas équipé pour l'exécution *du test de neutralisation* qui est actuellement considéré comme l'épreuve la plus sûre du contrôle de l'immunité antipoliomyélitique, nous avons fait vérifier *nos résultats par l'Institut Suisse de Sérothérapie et de Vaccination à Berne.*

### *Étude électrophorétique du sérum des lapins normaux :*

Le sang a été prélevé par ponction de la veine marginale de l'oreille. Étant donné que le lapin, animal très craintif, subit facilement un choc psychique au moment où on le manipule, nous avons adopté la méthode suivante pour le décontracter. Nous travaillons sur deux tables, laissant ainsi à un lapin le temps de s'acclimater au nouveau milieu tandis que l'on ponctionne l'autre. Pendant ce temps, on laisse une friandise à sa disposition, lorsqu'on doit s'occuper de lui, on l'approche avec calme et sans mouvements brusques. D'autre part, nous avons effectué les prélèvements de sang à l'aide d'une lame de rasoir, avec laquelle nous incisons légèrement la veine de l'oreille, après avoir soigneusement nettoyé les alentours d'abord en les rasant, puis en les passant à l'eau, à l'alcool et finalement au soluté physiologique. Le sang coule alors abondamment et on le recueille directement dans des tubes à essai que

l'on bouche hermétiquement et qu'on dispose à —18° en vue du *test de neutralisation*. une autre fraction de sang. nécessaire pour nos essais est laissée au repos pendant 2 heures à la température du laboratoire. puis centrifugé pour séparer le sérum du caillot d'hématies.

**Dosage des protides totaux :**

Étant donné que nous nous sommes proposé d'étudier *l'influence de l'immunisation sur la modification des électrophorégrammes*. nous avons jugé nécessaire de doser *les protides totaux* à titre de référence. A ce sujet. nous avons eu recours à la méthode de KINGSLEY qui permet de déterminer à la fois le *taux des protides totaux. des sérines-albumines et des globulines.*

Le sérum dilué est traité au moyen *d'un réactif spécial au Biuret* et la coloration qui apparaît est comparée avec celle d'une solution standard de protides traitée de la même manière. En préparant le sérum à examiner avant l'addition du réactif au Biuret. on peut séparer l'*albumine*. La teneur en *globulines* est ensuite calculée par différence.

MODE OPÉRATOIRE :

On introduit 0.5 cc d'un sérum non hémolysé dans un tube à centrifugation gradué, puis on y ajoute 9.5 cc d'une solution de *sulfate de sodium* à 23 °/₀. On agite avec précaution. et on prélève 2 cc du mélange homogénéisé que l'on introduit dans un tube à hémolyse (tube n° 1 destiné *au dosage des protides totaux*).

Le reste du mélange homogénéisé est additionné de 3 cc d'éther et l'on agite soigneusement. On bouche hermétiquement et l'on centrifuge pendant 5 minutes: on obtient ainsi deux phases : la supérieure formant une couche trouble. blanchâtre. est constituée *par les globulines*. tandis que la phase inférieure. limpide. contient *les sérines-albumines*. Au moyen d'une pipette de Pasteur on traverse avec précaution la couche de globulines et on prélève 2 cc de la phase inférieure que l'on introduit dans un autre tube à hémolyse (tube N° 2 destiné *au dosage des sérines-albumines*).

On prépare d'autre part 2 cc de *la solution standard de protéines* que l'on introduit dans le tube à hémolyse N° 3. tandis que le tube N° 4 reçoit 3 cc d'eau distillée. Ces deux derniers tubes servent de témoins.

Les quatre tubes sont alors additionnés de 4 cc *du réactif spécial au Biuret*. puis de 2 à 3 cc d'éther. On bouche hermétiquement. on agite soigneusement et on centrifuge pendant 5 minutes. On prélève ensuite. au moyen d'une pipette de Pasteur. la phase inférieure que l'on introduit dans les cuvettes du photocolorimètre. On doit procéder à la lecture aussi vite que possible. au cours des 15 premières minutes. puisqu'en attendant plus longtemps. il se forme un trouble qui nécessite un nouveau traitement à l'éther et une centrifugation.

On ajuste le photocolorimètre à 100° au moyen du tube N° 4 en interposant le filtre de 520 Å. Si l'on veut doser uniquement *les protides totaux*, on remplace *la solution de sulfate de sodium* par le soluté physiologique.

On calcule les valeurs d'après les équations suivantes :

Protides totaux : $\frac{\text{Degré Lumétron du tube 1}}{\text{Degré Lumétron du témoin}} \times C =$ Protides totaux en g/100 cc de sérum

Albumines : $\frac{\text{Degré Lumétron du tube 2}}{\text{Degré Lumétron du témoin}} \times C =$ Sérines-albumines en g/100 cc de sérum

Globulines : Protides totaux — Albumines = Globulines en g/100 cc de sérum.

C = Protides totaux du sérum standard non dilué, en g/100 cc de sérum.

Cette méthode permet de déterminer le taux de protides totaux jusqu'à 11 % avec suffisamment de précision.

*Les réactifs nécessaires sont les suivants* :

La solution de *sulfate de sodium* à 23 % est préparée en introduisant 230 g de ce sel anhydre et chimiquement pur dans 600 à 700 cc d'eau que l'on chauffe en agitant jusqu'à dissolution. On laisse refroidir à environ 37°, l'on transvase dans un ballon jaugé de 1000 cc et on complète à ce volume au moyen d'eau distillée. La solution doit être conservée en flacons hermétiquement clos et disposés à 37° pour éviter une recristallisation.

*Le réactif au Biuret* est obtenu en dissolvant 75 g de NaOH dans 100 cc d'eau distillée chauffée pour chasser le $CO^2$. La solution de NaOH est ensuite titrée à 75 % (poids/volume). Dans un ballon jaugé de 300 cc on introduit 92 cc de la solution titrée de NaOH (69 g NaOH) et on complète le volume à l'aide d'eau distillée. Cette solution est ensuite additionnée de 100 cc d'une solution à 1 % de *sulfate de cuivre* cristallisé. On mélange soigneusement; le réactif ainsi préparé est conservé en flacons hermétiquement clos par des bouchons de caoutchouc et reste stable à la température du laboratoire pendant plusieurs mois. La formation d'un très léger sédiment ne nuit pas aux mesures photocolorimétriques, puisqu'on travaille en même temps avec les deux tubes témoins.

Pour préparer la solution standard *de protides totaux*, on emploie 5 cc d'un *sérum humain normal*, dont on a dosé le taux de protides totaux au moyen de la microméthode de Kjeldahl. Ce sérum est ramené à 100 cc à l'aide d'une solution à 15 % de chlorure de sodium. Le taux de pro-

téines de cette solution sert de valeur témoin ; elle se conserve à la glacière pendant environ 1 mois, mais on a intérêt de procéder de temps en temps à un dosage de contrôle par le micro-kjeldahl. Au cours de notre travail nous avons remplacé avantageusement le sérum humain normal par un *sérum-test synthétique*: *le Versatol*, fourni par *les laboratoires Alcasynthèse.*

**Technique d'électrophorèse proprement dite :**

Nous avons employé la méthode de Grassmann et Hannig (22) avec une modification de la technique de décoloration. *L'appareil utilisé était l'Elphor* V.

Nous ne donnons ici que le principe de la méthode, qui consiste à suivre la migration des différentes fractions protéiques le long d'une bande de *papier-filtre Whatman* N° 1 mesurant 4 × 28 cm et imbibée d'une solution d'électrolytes (*Véronal*) à pH = 8,6 et de 0,1 mol. On porte sur ces bandes une ligne de départ au crayon, à 2 cm du bord le plus étroit, sur laquelle on dépose 0,006 cc de sérum à examiner. *La cuve Elphor* est reliée au courant de 110 V /2 mA environ et on laisse agir à la température du laboratoire pendant 15 heures. La solution tampon est préparée d'après les indications de Michaelis :

| | |
|---|---|
| Véronal sodique ..... | 9,809 g |
| Acétate de sodium cristallisé .... | 6,346 g |
| Acide chlorhydrique N /10 ..... | 60 ml |
| Eau distillée q.s.p. ..... | 1 000,0 cc |

Le pH doit être ajusté à 8,6 et contrôlé de temps en temps, même si l'on conserve la solution à la glacière.

Après ce temps de migration de 15 heures, les bandes de papier sont séchées soit pendant une heure à l'étuve à 37°, soit pendant 10 minutes à 100°.

*Pour la coloration*, les bandes de papier-filtre séchées sont disposées pendant 15 minutes dans une solution saturée à froid d'*Amidoschwarz* Lob dans un mélange de méthanol et d'acide acétique cristallisable à 10 /1. Pour obtenir une belle coloration, il faut agiter et retourner de temps en temps les bandes dans le colorant.

Pour la décoloration nous ne nous sommes pas tenu à la méthode de Grassmann et Hannig, mais nous avons employé celle de Wahlig (23). Cet auteur emploie, *en plus du méthanol et de l'acide acétique, de l'eau* introduite à des concentrations progressivement croissantes ; il a ainsi pu obtenir une séparation plus nette *des différentes zones de protéines* et les parties non protéiniques se décolorent parfaitement, de sorte que la lecture optique devient nette et plus facile. De plus, cette technique permet de diminuer le temps de décoloration de 4 heures à 1 heure seulement. Nous avons procédé de la façon suivante :

Premier temps : 80 % de méthanol + 10 % d'acide acétique + 10 % d'eau : 15′
2e temps : 60 % de méthanol + 10 % d'acide acétique + 30 % d'eau : 15′
3e temps : 40 % de méthanol + 10 % d'acide acétique + 50 % d'eau : 30′.

Après décoloration on sèche les bandes de papier-filtre pendant une heure à 37°.

*Pour l'enregistrement photométrique*, on doit rendre la bande translucide par traitement avec *une solution de paraffine et d'α-bromo-naphtalène*. On dispose environ 2 cc de ce liquide sur deux lames de verre, on met la bande sur l'une d'entre elles et on la recouvre avec l'autre lame en évitant les bulles d'air. La photométrie proprement dite est effectuée *avec l'enregistreur d'extinction* N° 2 *de Zeiss**). Nous n'avons pas pu profiter de *l'intégrateur Zeiss*, puisque cet appareil enregistre en même temps des bandes non spécifiques dues à *des facteurs protéiques provenant de l'hémoglobine, etc.* Nous aurons l'occasion de revenir sur ce facteur. Les courbes enregistrées indiquant en abscisse le déplacement et en ordonnée les unités photométriques correspondantes ont été évaluées par planimétrie. Pour éviter des causes d'erreur toutes les courbes ont été planimétrées trois fois et nos résultats expriment la moyenne de ces trois mesures.

L'interprétation *des électrophorégrammes est souvent faussée par des traces d'hémoglobine* qui se trouvent dans le sérum. En effet, *le sang des lapins* est facilement sujet à une hémolyse; nous nous sommes référé à ce sujet aux travaux de Boguth (24) qui indique qu'avec la solution tampon au Véronal *les hémoprotéines migrent avec les β-globulines*. Ces faits ont été confirmés par Geinitz (25) et par Wieme (26); ces auteurs mentionnent que les $\alpha_2$-globulines ne fixent pas l'hémoglobine. Nous avons donc effectué des recherches pour contrôler ces faits, puisque d'après Heymann et Wahlig (27) *la migration de l'hémoglobine avec la fraction des β-globulines* n'est pas certaine.

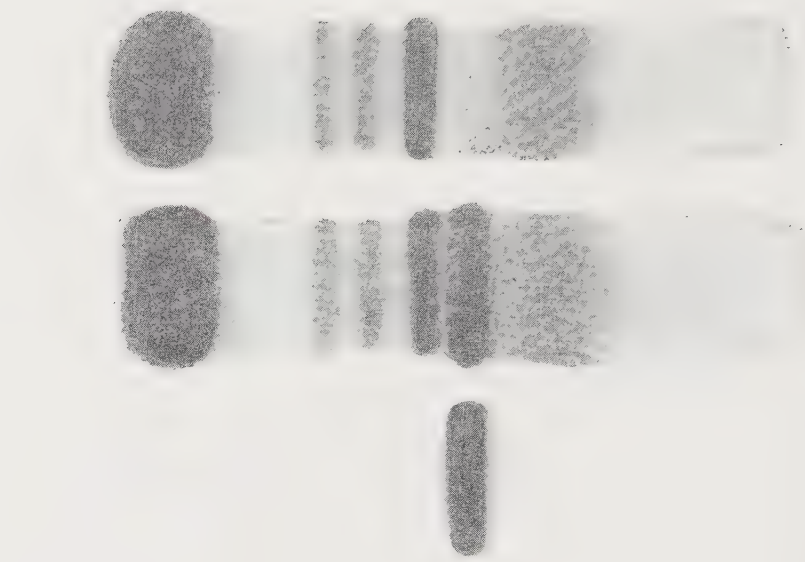
Pour élucider ce problème, nous avons effectué trois électrophorèses simultanément sur trois bandes, en mettant à l'épreuve

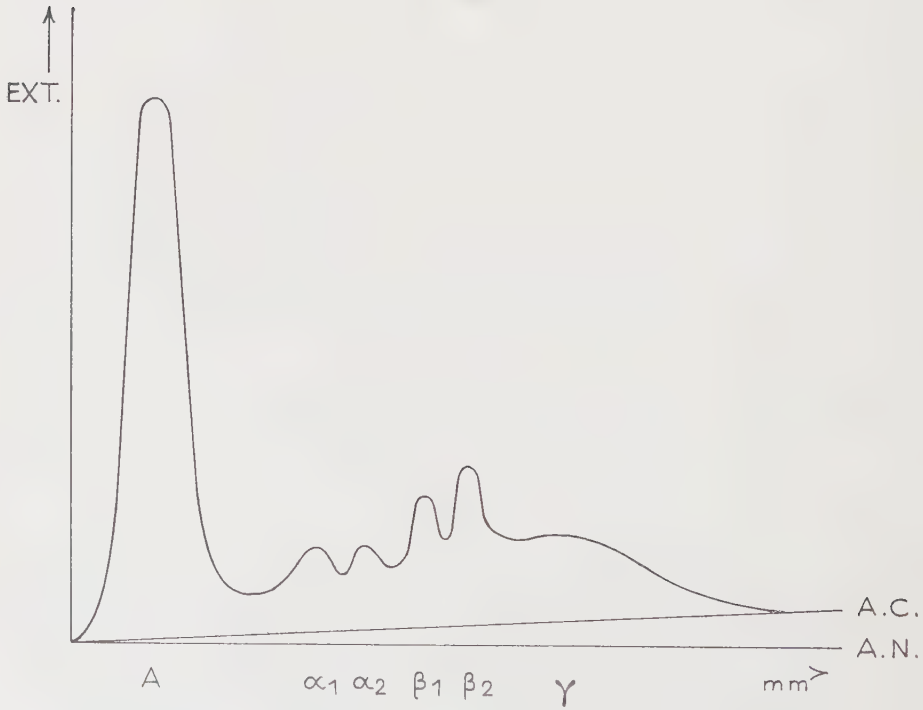
1) un sérum normal non hémolysé;
2) le même sérum additionné d'hémoglobine pure homologue;
3) l'hémoglobine seule.

Les trois substrats sont étalés sur la ligne de départ et soumis à l'électrophorèse simultanément. Nous reproduisons dans la figure ci-après les trois électrophorégrammes, d'où l'on voit que la fraction la plus importante de l'hémoglobine migre avec la $\beta_2$-globuline.

---

*) Nous remercions vivement Monsieur le Docteur BACK, Directeur du Laboratoire de l'hôpital Pasteur de Colmar qui a mis cet appareil à notre disposition, ainsi que Madame Zimmermann pour les mesures planimétriques.






Légende : A. N. = abscisse normale. A. C. = abscisse corrigée.

Fig. 1

L'interprétation quantitative de ces trois électrophorégrammes nous permet de conclure que 80 à 83 % *de l'hémoglobine reste fixée sur la bande des* $\beta_2$*-globulines*; 8 à 10 % *sur celle des* $\gamma$*-globulines* et le restant, environ 8 à 10 %, *est adsorbé par le papier-filtre lors de l'électrophorèse et y laisse une trainée.* C'est pour cette raison que nous avons dû renoncer à l'emploi de *l'intégrateur Zeiss* et que nous avons dû changer le système de coordination, en ne tenant pas compte de *l'abscisse initiale*, mais *d'une abscisse corrigée en rapport avec le taux de la trainée d'hémoglobine.* Nous avons aussi tenu compte de ce fait pour l'interprétation de la fraction des $\beta_2$-globulines du sérum de nos lapins, puisque nous avons constaté que la plus grande partie de l'hémoglobine migre avec cette fraction. Par contre, nous croyons que *la petite proportion d'hémoglobine se fixant sur les* $\gamma$*-globulines* peut être négligée.

TABLEAU N° 4

| Lapin n° | Albumine g °/oo | Globulines | | | Rapport γ-glob. / albumine |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $\alpha_1 + \alpha_2$ | $\beta$ | $\gamma$ | |
| 1 | 63,0 | 10,3 | 13,2 | 13,5 | 0,21 |
| 2 | 58,5 | 12,9 | 11,2 | 17,4 | 0,30 |
| 3 | 66,8 | 11,0 | 8,7 | 13,5 | 0,20 |
| 4 | 67,6 | 8,5 | 12,7 | 11,2 | 0,17 |
| 5 | 65,7 | 9,5 | 8,6 | 16,2 | 0,25 |
| 6 | 55,7 | 12,5 | 14,4 | 17,4 | 0,31 |
| 7 | 62,5 | 8,3 | 13,8 | 15,4 | 0,25 |
| 8 | 59,3 | 9,8 | 13,1 | 17,8 | 0,30 |
| 9 | 50,4 | 16,2 | 14,8 | 18,6 | 0,37 |
| 10 | 67,1 | 10,0 | 11,7 | 11,2 | 0,17 |
| 11 | 59,3 | 13,1 | 15,9 | 11,7 | 0,20 |
| 12 | 61,8 | 7,5 | 12,9 | 17,8 | 0,29 |
| 13 | 59,5 | 10,1 | 11,4 | 19,0 | 0,32 |
| 14 | 53,5 | 9,4 | 10,3 | 16,8 | 0,26 |
| 15 | 62,0 | 12,4 | 9,8 | 15,8 | 0,25 |
| 16 | 63,5 | 12,3 | 10,4 | 13,8 | 0,22 |
| 17 | 60,0 | 11,6 | 10,9 | 17,5 | 0,29 |
| 18 | 64,1 | 10,4 | 10,3 | 15,2 | 0,29 |
| 19 | 61,3 | 10,3 | 13,2 | 15,2 | 0,25 |
| 20 | 62,7 | 11,5 | 12,0 | 13,8 | 0,22 |
| 21 | 69,6 | 8,0 | 8,2 | 14,2 | 0,20 |
| 22 | 63,9 | 11,9 | 12,0 | 12,2 | 0,19 |
| 23 | 62,0 | 13,0 | 13,4 | 11,4 | 0,18 |
| 24 | 66,9 | 10,5 | 10,2 | 18,4 | 0,30 |
| Total ..... | 1490,7 | 261,0 | 282,7 | 364,6 | 5,99 |
| Moyenne ... | 62,1 | 10,9 | 11,8 | 15,2 | 0,245 |

Pour nos essais nous avons eu recours à des lapins mâles, âgés d'environ 6 mois et pesant 2 à 3 kg. Nous avons toujours sélectionné plusieurs animaux d'une même nichée, élevés et soignés dans des conditions toujours identiques; avant le prélèvement de sang, on les laissait à jeun pendant 24 heures. Tous les animaux étaient examinés avant tout traitement et groupés ensuite en séries de deux, dont l'un était traité par *le vaccin antipoliomyélitique seul et l'autre par le vaccin associé à l'acide pantothénique.*

Nous rapportons dans le tableau N° 4 les valeurs électrophorétiques calculées en rapport avec le dosage des protides totaux par la méthode de Kingsley, pour 24 lapins.

Nous rapportons dans le graphique ci-dessous les moyennes de ces différentes fractions protéiques du sérum de lapins normaux :

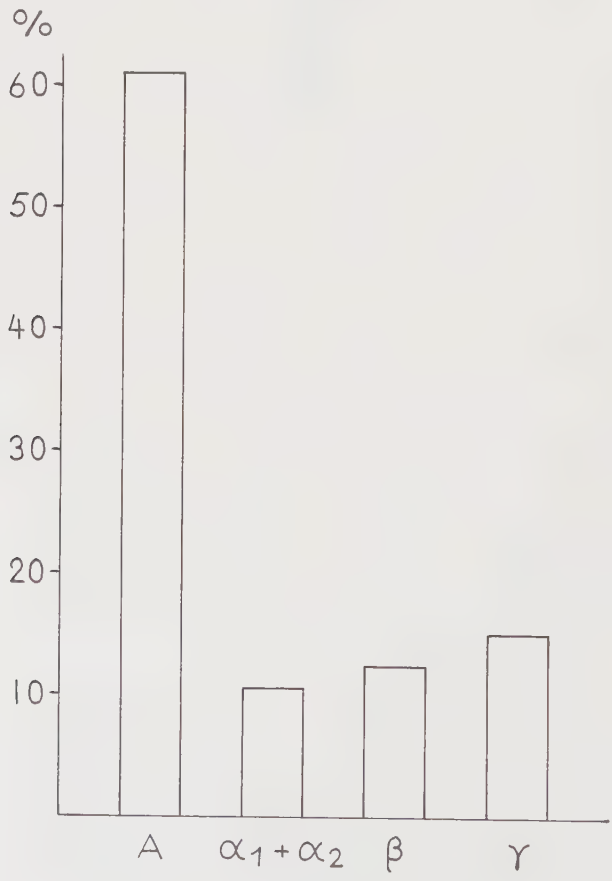



Fig. 2

Nous avons tenu à donner le rapport γ-globulines/albumines qui, d'après les travaux de Heymann et Wahlig, illustre le mieux les modifications du spectre protéique du sérum, *consécutives à la vaccination et à la formation des anticorps*. Au cours de leurs expériences, ces auteurs ont trouvé un rapport normal moyen de 0,21 et ce rapport augmente au cours et après la vaccination. On voit que ces résultats sont tout à fait relatifs et *le contrôle de l'influence de la vaccination sur le taux des différentes fractions protéiniques* n'est possible qu'en considérant des séries assez importantes d'animaux, examinés avant et après la vaccination.

**Technique de vaccination :**

Pour la vaccination de nos lapins, nous avons employé *trois antigènes différents*. Au début, nous avions recours *au vaccin* Salk (*Lilly*); il s'agit d'une suspension aqueuse de virus poliomyélitique inactivé par le formol et renfermant *le type* I *Mahoney*, *le type* II *MEF*-I *et le type* III *Saukett*. Ce vaccin contient en plus une solution tampon, du rouge de phénol comme indicateur, de faibles traces de *Pénicilline et de Dihydrostreptomycine*, *du Merthiolate* (éthyl-mercuri-thiosalicylate de sodium) devant protéger d'une surinfection bactérienne, et de l'éthylènediamine-tétra-acétate de sodium comme stabilisateur.

*Un deuxième antigène*, que nous avons utilisé surtout pour les réactions sérologiques, est constitué par *une suspension pure de virus Pm* 100 fois concentrée, *du type Mahoney* (préparation T 745), inactivée par la chaleur et que l'*Institut Sérothérapique et Vaccinal de Berne* a mis gracieusement à notre disposition.

*Le troisième antigène utilisé était le vaccin vivant poliomyélitique de ce même Institut*, vaccin destiné à l'immunisation par voie buccale. Il renferme des virus vivants, susceptibles de se multiplier, mais non pathogènes pour l'homme. Il s'agit de trois souches isolées par Sabin : type 1 (L.Sc.2ab) type II (P 712 Ch 2ab), type III (Léon 12 ab). Ces souches ont été cultivées d'après la méthode de Sabin et contrôlées en ce qui concerne leur neuro-virulence et leur pureté (absence d'autres virus). Ce vaccin existe sous forme *monovalente* (chaque type séparément) *ou trivalente* (les trois types mélangés à parties égales). Une dose de 0,5 cc correspond à environ 100 000 à 200 000 *unités infectieuses du type viral correspondant;* on voit qu'il s'agit d'un vaccin très concentré. Pour la vaccination par voie buccale, cet antigène doit être dilué à 1/10. Nous avons eu recours à cet antigène surtout au cours de nos expériences de déviation du complément et de précipitation.

Au sujet de l'emploi de ce vaccin viral buccal, nous voudrions nous référer à un travail de Rossi (28); on connaît actuellement trois sortes

de vaccins par voie buccale, qui renferment les trois types principaux de virus isolés et préparés par Sabin, Koprowsky et Cox. Le groupe Koprowsky renferme les souches type I (Wistar-Chat), type II (TN) et type III (Wistar-Fox); le vaccin Cox contient les types I SM, II MEF I et III Fox.

Rossi a écrit en 1960 qu'après la vaccination de 20 millions d'enfants, on peut considérer ces vaccins buccaux comme inoffensifs. Les virus atténués produisent une véritable poliomyélite bénigne des intestins; on arrive ainsi à une augmentation des anticorps beaucoup plus constante et plus importante. Le taux des anticorps est beaucoup plus élevé que lors de l'emploi *du vaccin Salk*, où l'on observe la formation d'anticorps seulement chez 75 % des sujets immunisés. On avait craint que les vaccinés par voie orale puissent devenir des porteurs de germes permanents, mais cette crainte s'est avérée injustifiée, puisqu'après 90 à 120 jours au maximum, le virus n'est plus éliminé par eux. D'autre part, on a contrôlé *la stabilité de l'atténuation de ces virus* par des passages successifs à travers 8 à 10 sujets, ce qui constitue le maximum théorique de possibilité; le virus n'a accusé aucune augmentation de virulence. Ce vaccin possède un autre avantage : il peut être utilisé pour l'immunisation des nourrissons. La première immunisation s'effectue par administration de chaque type séparément, en commençant par le type I, puis le type III et finalement le type II. Entre chaque prise, il faut respecter au moins un intervalle de 6 semaines. Un an plus tard, il y a lieu de procéder à *une immunisation de rappel* à l'aide du vaccin trivalent. L'immunité ainsi obtenue est beaucoup plus prononcée et plus stable que celle consécutive *au vaccin du type Salk*. L'immunisation par ces vaccins buccaux dure pratiquement toute la vie.

Pour étudier l'influence de la vaccination sur les valeurs protidiques du sérum, nous avons employé dans une première série d'expériences *le vaccin de Salk*. Comme nous l'avons indiqué antérieurement, nous avons sélectionné parmi un grand nombre de lapins, 24 animaux dont les taux de protéines sériques avec leurs différentes fractions tombaient dans les limites physiologiques normales. Nous voyons en effet dans le tableau N° 4 que ces valeurs varient d'un individu à l'autre. C'est avec ces animaux que nous avons effectué nos expériences. Nous en avons sélectionné six pour *la vaccination au moyen du vaccin Salk* qui a été administré à raison de 1 cc par voie sous-cutanée, à trois reprises avec un intervalle d'une semaine, puis à raison de 2 cc par voie intraveineuse à trois reprises dans les mêmes conditions. L'électrophorèse a été effectuée avant le commencement du traitement et une semaine après la dernière injection. Nous rapportons les résultats dans le tableau suivant :

TABLEAU N° 5

| Lapin n° | Valeurs avant traitement | | | | | Valeurs après traitement | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alb. g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rap. γ-glob. / alb. | Alb. g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rap. γ-glob. / alb. |
| 1 | 66,1 | 9,5 | 10,1 | 14,3 | 0,22 | 63,0 | 11,7 | 11,1 | 14,2 | 0,23 |
| 2 | 60,4 | 12,1 | 14,2 | 13,3 | 0,22 | 57,6 | 14,6 | 13,6 | 14,2 | 0,25 |
| 3 | 60,4 | 14,8 | 12,0 | 12,8 | 0,20 | 62,0 | 13,5 | 9,3 | 15,2 | 0,25 |
| 4 | 58,4 | 15,6 | 14,6 | 11,4 | 0,20 | 61,0 | 10,1 | 13,1 | 15,8 | 0,26 |
| 5 | 63,7 | 13,2 | 8,3 | 14,8 | 0,23 | 61,1 | 12,4 | 10,2 | 16,3 | 0,27 |
| 6 | 61,6 | 12,6 | 13,0 | 12,8 | 0,21 | 67,0 | 7,3 | 7,4 | 18,3 | 0,28 |
| Total . . | 370,7 | 77,8 | 72,2 | 79,4 | | 371,7 | 69,6 | 64,7 | 94,0 | |
| Moyenne | 61,9 | 13,0 | 12,0 | 13,1 | 0,21 | 62,0 | 11,6 | 10,8 | 15,7 | 0,25 |

**Interprétation :**

En considérant ces résultats, on se rend compte que les lapins réagissent très peu au *vaccin Salk*, du moins dans nos conditions expérimentales. Les modifications des différentes fractions protéiques sont insignifiantes; cependant, le rapport γ-globulines/albumine est en général augmenté.

Six autres lapins ont été vaccinés *au moyen de la suspension* T 745 à raison de 1 cc, administré comme le *vaccin Salk*.

TABLEAU N° 6

| Lapin n° | Valeurs avant traitement | | | | | Valeurs après traitement | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alb. g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rap. γ-glob. / alb. | Alb. g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rap. γ-glob. / alb. |
| 7 | 72,4 | 7,7 | 7,8 | 12,1 | 0,17 | 54,0 | 14,8 | 12,0 | 19,2 | 0,36 |
| 8 | 59,3 | 15,3 | 8,7 | 16,7 | 0,28 | 55,9 | 12,8 | 11,1 | 20,2 | 0,36 |
| 9 | 62,5 | 12,9 | 14,0 | 10,6 | 0,17 | 52,4 | 12,9 | 15,5 | 19,2 | 0,35 |
| 10 | 62,0 | 11,1 | 9,7 | 17,2 | 0,28 | 56,0 | 13,4 | 9,4 | 21,2 | 0,38 |
| 11 | 69,2 | 9,4 | 8,7 | 12,7 | 0,18 | 52,5 | 16,1 | 12,6 | 18,8 | 0,36 |
| 12 | 62,1 | 11,9 | 10,1 | 15,9 | 0,26 | 55,4 | 12,3 | 11,8 | 21,0 | 0,38 |
| Total . . | 387,5 | 68,3 | 59,0 | 85,2 | | 326,2 | 82,3 | 71,9 | 119,6 | |
| Moyenne | 64,5 | 11,4 | 9,9 | 14,2 | 0,22 | 54,3 | 13,7 | 12,0 | 20,0 | 0,37 |

**Interprétation :**

Ces résultats nous montrent qu'il y a, après vaccination des lapins *par l'antigène* T 745, un abaissement sensible des albumines en faveur des globulines, principalement β et γ. Le rapport γ-globulines/albumines est ici nettement augmenté. L'antigène concentré T 745 a donc sûrement une influence sur la production des anticorps qui font notoirement partie des fractions des γ-globulines et, secondairement, des β-globulines.

Nous illustrons ces faits par le graphique Figure N⁰ 3.

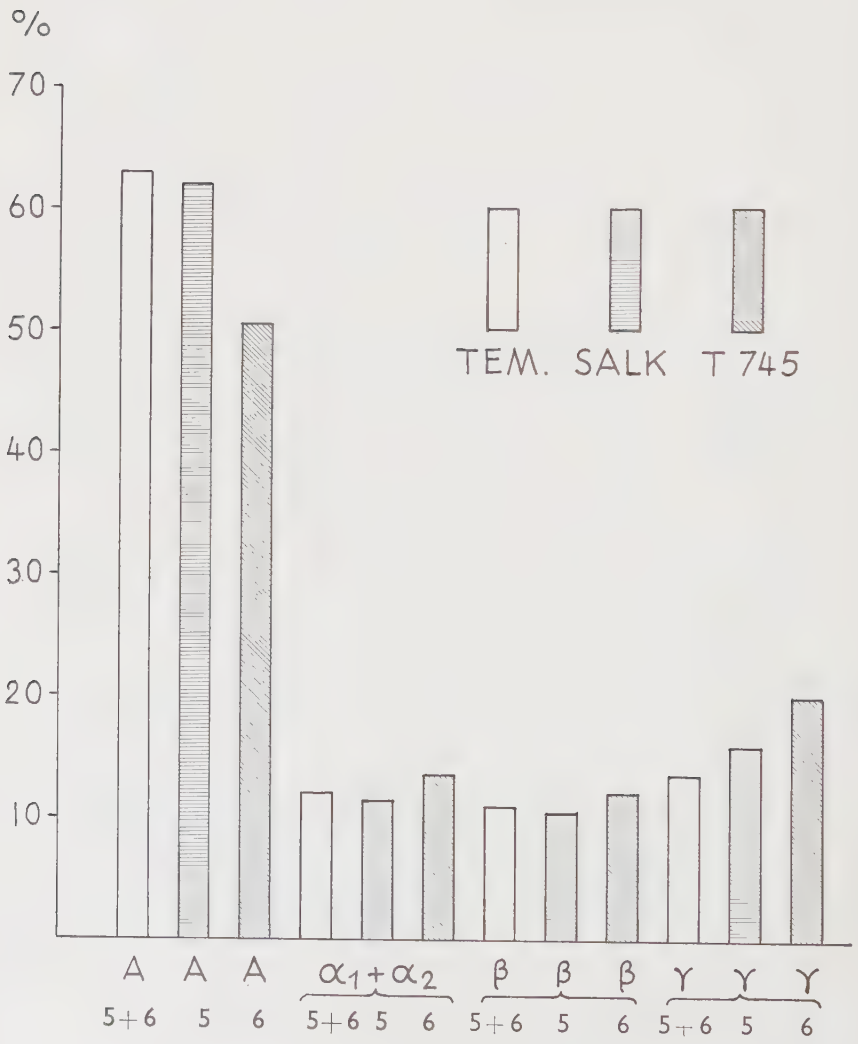



Fig. 3

Les colonnes expriment les valeurs moyennes des tableaux N° 5 et 6.

Exemple : Albumine g $^0/_{00}$ tableau 5 : 61,9
Albumine g $^0/_{00}$ tableau 6 : 64,5
Total : 126,4
Divisé par 2 = colonne A : 5 + 6 : 63,2

Nous rapportons ci-dessous les diagrammes électrophorétiques concernant cette dernière expérience, sur lesquels on constate les modifications des différentes fractions protéiques avant et après le traitement par *l'antigène* T 745.

Fig. 4 - Lapin N° 7

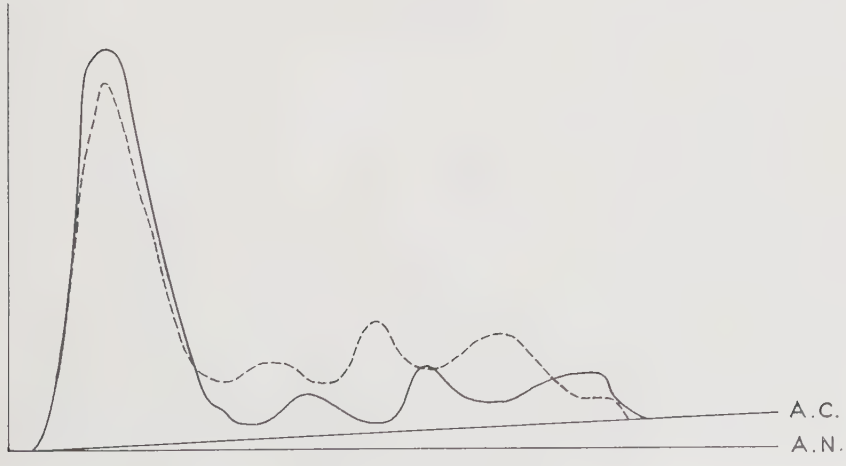



Fig. 5 - Lapin N° 8

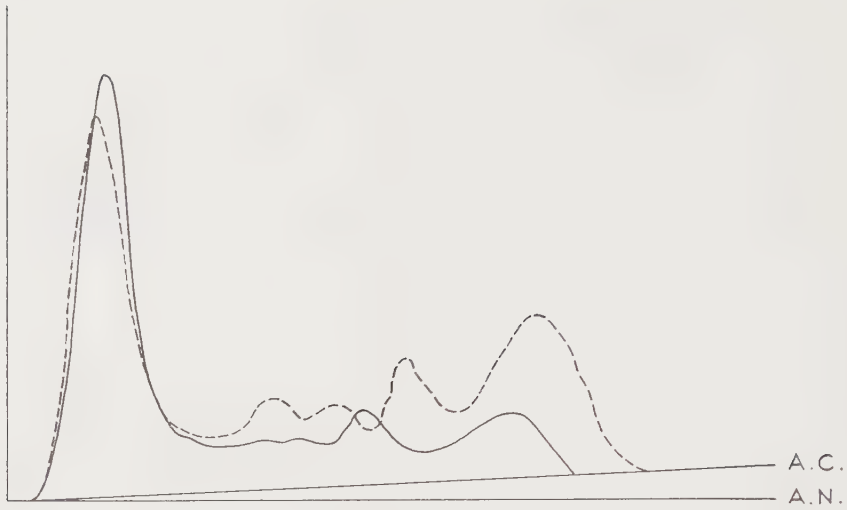



Fig. 6 - Lapin N° 9

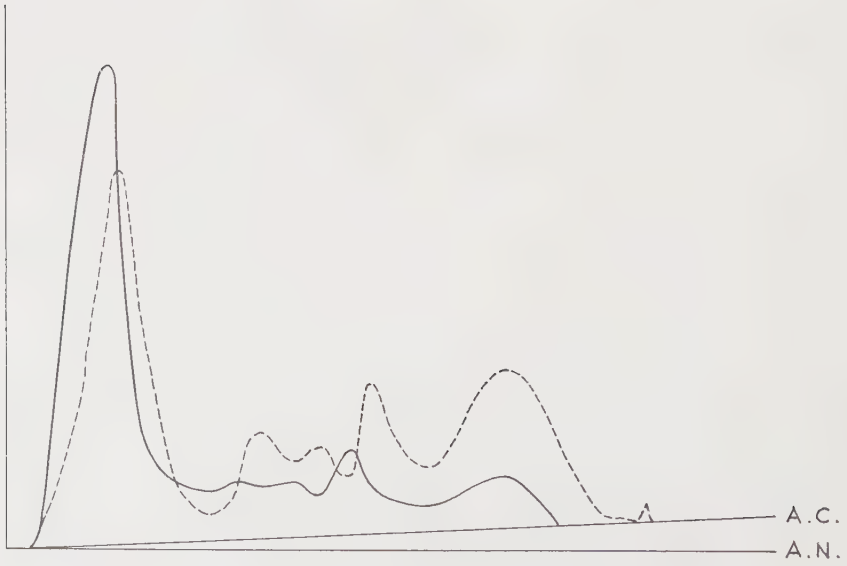



Fig. 7 - Lapin N° 10

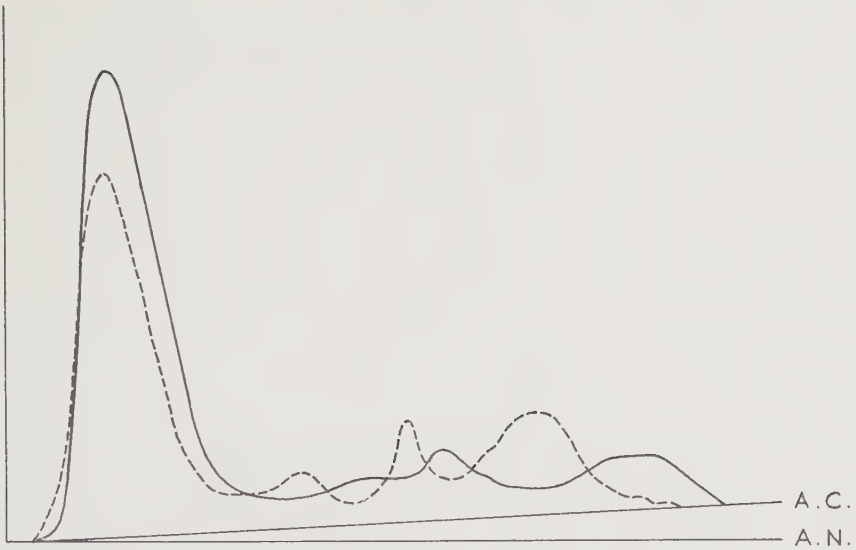



Fig. 8 - Lapin N° 11

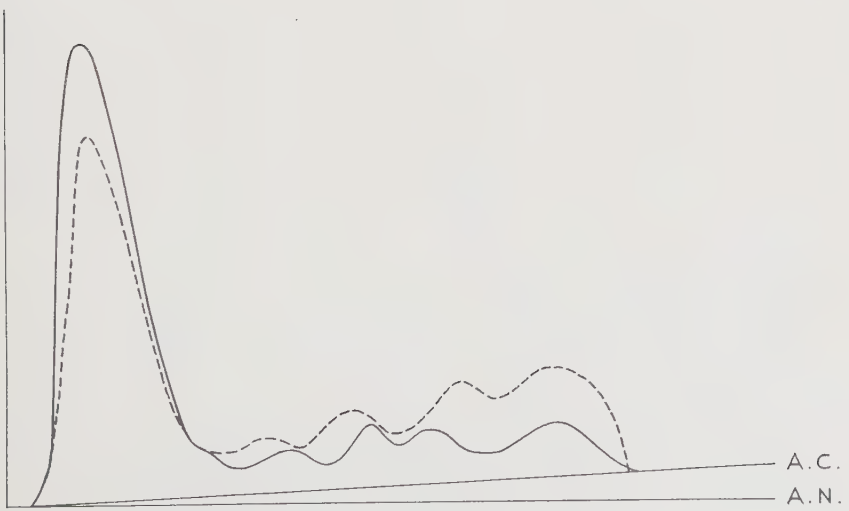



Fig. 9 - Lapin N° 12

A la suite de ces constatations, nous avons jugé nécessaire de contrôler la stabilité de l'état d'immunité dans le temps; nous avons donc procédé à une nouvelle expérience, en prélevant le sang de nos lapins six semaines après la dernière injection de vaccin.

TABLEAU N° 7

| Lapin n° | Valeurs avant traitement | | | | | Valeurs 6 semaines après la vaccination | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alb. g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rap. γ-glob. / alb. | Alb. g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rap. γ-glob. / alb. |
| | | | | *a) Vaccin Salk* | | | | | | |
| 1 | 66,1 | 9,5 | 10,1 | 14,3 | 0,22 | 63,5 | 12,3 | 10,4 | 13,8 | 0,22 |
| 2 | 60,4 | 12,1 | 14,2 | 13,3 | 0,22 | 63,0 | 12,3 | 14,8 | 9,9 | 0,16 |
| 3 | 60,9 | 14,8 | 12,0 | 12,8 | 0,20 | 62,6 | 12.0 | 13.2 | 12.2 | 0.20 |
| 4 | 58,4 | 15,6 | 14,6 | 11,4 | 0,20 | 61,3 | 14,3 | 14,2 | 10,2 | 0,16 |
| 5 | 63,7 | 13,2 | 8,3 | 14,8 | 0,23 | 62,7 | 11,5 | 12,0 | 13,8 | 0,22 |
| 6 | 61,6 | 12,6 | 13,0 | 12,8 | 0,21 | 63,9 | 11,9 | 12,0 | 12,2 | 0,19 |
| Total . . . . | 371,1 | 77,8 | 72,7 | 79,4 | | 377,0 | 74,3 | 76,6 | 72,1 | |
| Moyenne . | 61,9 | 13,0 | 12,0 | 13,1 | 0,21 | 62,8 | 12,4 | 12,7 | 12,1 | 0,19 |
| | | | | *b) Vaccin T 745* | | | | | | |
| 7 | 72,4 | 7,7 | 7,8 | 12,1 | 0,17 | 67,6 | 8,5 | 12,7 | 11,2 | 0,17 |
| 8 | 59,3 | 15,3 | 8,7 | 16,7 | 0,28 | 59,3 | 9,8 | 13,1 | 17,8 | 0,30 |
| 9 | 62,5 | 12,9 | 14,0 | 10,6 | 0,17 | 67,1 | 10,0 | 11,7 | 11,2 | 0,17 |
| 10 | 62,0 | 11,1 | 9,7 | 17,2 | 0,28 | 64,1 | 10,4 | 10,3 | 15,2 | 0,29 |
| 11 | 69,2 | 9,4 | 8,7 | 12,7 | 0,18 | 66,8 | 11,0 | 8,7 | 13,5 | 0,20 |
| 12 | 62,1 | 11,9 | 10,1 | 15,9 | 0,26 | 62,0 | 9,8 | 12,4 | 15,8 | 0,25 |
| Total . . . . | 387,5 | 68,3 | 59,0 | 85,2 | | 386,9 | 59,5 | 68,9 | 84,7 | |
| Moyenne . | 64,5 | 11,4 | 9,9 | 14,2 | 0,22 | 64,5 | 9,9 | 11,5 | 14,1 | 0,22 |

**Interprétation :**

En considérant ces résultats, on remarque que les lapins vaccinés par *le vaccin Salk* ne manifestent plus de symptômes d'immunité par l'électrophorèse; en effet on note une diminution générale *du taux des γ-globulines* et une augmentation partielle *des β-globulines* six semaines après la fin de la vaccination. D'autre part, *les rapports* γ-globulines/al-

bumines sont stables ou légèrement abaissés. On pourrait interpréter cette variation *des γ-globulines* par un effet physiologique : la production d'anticorps ayant été très faible au cours de la vaccination, l'organisme essaie d'équilibrer son métabolisme protidique et on passe pendant cette première période par un abaissement *des γ-globulines*. Nous illustrons ces faits par le graphique Figure 10. Les colonnes expriment les valeurs moyennes du tableau N° 7a et 7b.

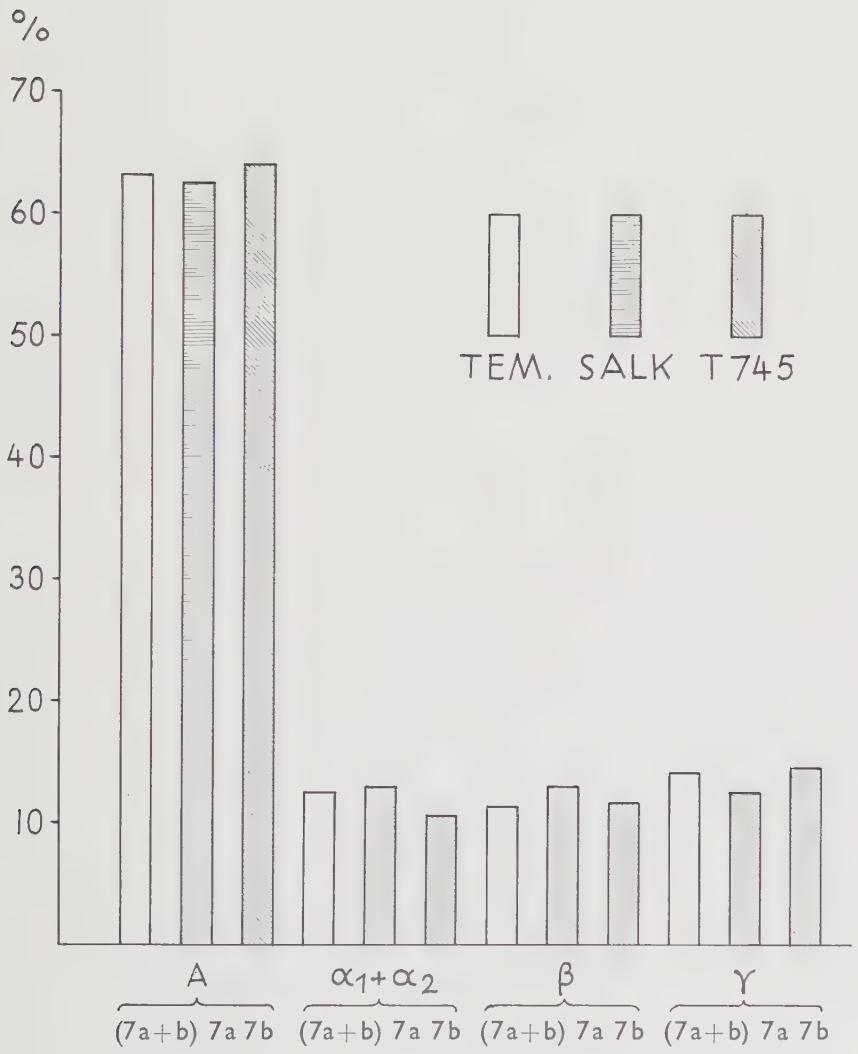



Fig. 10

Les résultats de la vaccination par *l'antigène* T 745 s'expriment sensiblement de la même façon, cependant les diagrammes électrophorétiques témoignent d'une stabilité des anticorps un peu plus durable, puisque *les taux de γ-globulines* restent encore légèrement augmentés après six semaines, de même que *les β-globulines*. Ce fait est surtout manifeste chez les lapins N° 8 et 10, où *les γ-globulines* étaient initialement très élevées au détriment *des β-globulines*, alors que six semaines après la vaccination les premières restent stables ou augmentent encore un peu et que *les β-globulines* prennent de l'avantage au détriment *des α-globulines*.

Après avoir constaté que *la durée de l'immunité engendrée par les deux antigènes est très courte*, nous avons voulu étudier l'influence de *l'Acide pantothénique* sur l'évolution du processus d'immunisation.

## CHAPITRE V

# ÉTUDE ÉLECTROPHORÉTIQUE DU SÉRUM DE LAPINS TRAITÉS PAR LE VACCIN ANTIPOLIOMYÉLITIQUE + ACIDE PANTOTHÉNIQUE.

Dans une récente publication, J. Meyer (29) remarque que l'action *de l'acide pantothénique* se manifeste chaque fois que nous voyons apparaître une déficience dans la genèse des anticorps spécifiques. Bloch et lui (30), ont contrôlé l'action de l'association *acide pantothénique + antibiotiques sur le Complément* et il leur a été donné de constater une nette augmentation du taux *d'acide pantothénique* comparativement au taux normal six heures après l'injection. A ce moment, il n'y a aucune influence de la Vitamine sur le Complément, mais elle se manifeste après 7 heures et augmente progressivement pour atteindre, après 48 heures, 150 % du taux alexique initial. Chez tous les animaux, le point culminant de la courbe alexique est atteint entre 24 et 48 heures. Des essais sur les animaux, soumis à *l'antibiothérapie* ont montré que *la Streptomycine*, par exemple, amène un fléchissement du taux alexique, alors que *la Pénicilline* n'a pas d'influence directe sur ce facteur, et ceci en thérapie intégrale ou associée à *la Vitamine* $B_5$. Les deux antibiotiques agissent donc tout différemment et *la Streptomycine* semble plus nuisible que *la Pénicilline vis-à-vis du Complément et de la pantothénémie.* On peut parler d'une action d'« *immunoprotection* » *de la Vitamine* $B_5$ agissant surtout sur le tissu mésenchymateux; cet effet détoxicant a été constaté entre-temps par un grand nombre d'auteurs et nous renvoyons à ce sujet au travail de H. Muckter (31) dont il ressort d'après Drell, Shils et Bean qu'une déficience en *Acide pantothénique* occasionne chez l'animal *des troubles du métabolisme biochimique*, concernant l'acétylation, le métabolisme glucidique, le taux de cholestérol ainsi qu'un déséquilibre des hormones stéroïdes. Mascitelli-Coriandoli *et ses collaborateurs* (32) ont étudié l'influence des antibiotiques en rapport avec la répartition intracellulaire *de la Coenzyme* A. Ils ont ainsi constaté que sous l'influence d'une thérapie antibiotique parentérale le taux de cette *Coenzyme* A reste sensiblement stable dans le noyau et le plasma, tandis que celui des mitochondries est nettement diminué. La même médication par voie buccale pendant 4 semaines occasionne une diminution de la *Coenzyme* A dans tous les composants cellulaires. Les auteurs expliquent ces observations par l'action immédiate des antibiotiques injectés par voie parentérale sur les mitochondries, action qui se

répercute ensuite sur la synthèse de la Coenzyme A. Par contre, l'administration prolongée d'un antibiotique par voie buccale amène un blocage de la genèse de l'Acide pantothénique par la flore intestinale ou éventuellement un trouble de l'absorption de cet Acide pantothénique. Nous aurons l'occasion de revenir sur ces travaux pour expliquer nos résultats expérimentaux.

Pour contrôler l'influence *de l'acide pantothénique sur l'état d'immunité et la formation d'anticorps*, nous avons répété les expériences avec nos deux antigènes associés à la pantothénothérapie.

*L'Acide pantothénique* a été injecté sous forme de *Bépanthène Roche* (ampoules de 2 cc à 0,5 g de Pantothénol). Les animaux étaient vaccinés comme dans la série précédente, mais ils ont reçu à partir de la 4e semaine deux fois par semaine 0,5 cc = 0,125 g de Pantothénol en injections sous-cutanées. Dans la semaine suivant la dernière vaccination nous avons encore pratiqué deux injections de 0,5 cc de Pantothénol.

Les prélèvements de sang ont été effectués le jour précédant la première piqûre, puis après la dernière injection sous-cutanée (fin de la 3e semaine) et 6 semaines après la dernière injection d'antigène. Le premier prélèvement devait nous servir à trier les lapins et nous avons intentionnellement sélectionné ceux qui présentaient une γ-globulinémie très basse ou très haute et un rapport γ-globulines albumines très différent. Dans le tableau N° 8, nous rapportons les résultats de ces expériences en ce qui concerne les animaux vaccinés avec le vaccin Salk + *acide pantothénique*..

Le tableau N° 9 rapporte les résultats concernant les animaux ayant reçu l'antigène T 745 + acide pantothénique.

Si l'on fait la moyenne des valeurs trouvées pour les deux séries d'animaux lors du premier prélèvement, c'est-à-dire avant tout traitement, on trouve : Albumine : 64,3; Globulines α : 12,1
β : 10,4
γ : 13,2.

Rapport γ-glob./alb. : 0,20.

TABLEAU N° 8

## Expériences concernant les animaux traités par le vaccin Salk + acide pantothénique

| Lapin n° | Albumine g °/oo | Globulines | | | Rapport γ-globulines / albumines |
|---|---|---|---|---|---|
| | | α | β | γ | |
| | | 1er *prélèvement (avant tout traitement)* | | | |
| 13 | 65,5 | 7,5 | 8,8 | 18,2 | 0,28 |
| 14 | 75,7 | 6,9 | 6,4 | 11,0 | 0,15 |
| 15 | 67,0 | 11,0 | 10,1 | 11,9 | 0,18 |
| 16 | 62,9 | 9,4 | 11,9 | 15,8 | 0,25 |
| 17 | 59,2 | 15,6 | 11,8 | 13,4 | 0,23 |
| 18 | 63,4 | 16,2 | 9,7 | 10,7 | 0,17 |
| Total ..... | 393,7 | 66,6 | 58,7 | 81,0 | |
| Moyenne ... | 65,6 | 11,1 | 9,8 | 13,5 | 0,21 |
| | | 2e *prélèvement (avant injection de Bépanthène)* | | | |
| 13 | 64,1 | 10,4 | 10,3 | 15,2 | 0,29 |
| 14 | 67,1 | 10,0 | 11,7 | 11,2 | 0,17 |
| 15 | 61,0 | 13,4 | 13,6 | 12,0 | 0,20 |
| 16 | 62,0 | 9,8 | 12,4 | 15,8 | 0,25 |
| 17 | 62,2 | 11,2 | 12,1 | 14,5 | 0,23 |
| 18 | 63,9 | 11,9 | 12,0 | 12,2 | 0,19 |
| Total ..... | 380,3 | 66,7 | 72,1 | 80,9 | |
| Moyenne ... | 63,4 | 11,1 | 12,0 | 13,5 | 0,21 |
| | | 3e *prélèvement (6 semaines après fin de vaccination)* | | | |
| 13 | 64,0 | 7,5 | 7,5 | 21,0 | 0,33 |
| 14 | 61,6 | 7,4 | 13,8 | 17,2 | 0,28 |
| 15 | 61,5 | 11,2 | 12,6 | 14,7 | 0,24 |
| 16 | 55,2 | 11,8 | 13,0 | 20,0 | 0,36 |
| 17 | 57,7 | 11,6 | 13,9 | 16,8 | 0,29 |
| 18 | 58,3 | 16,0 | 11,7 | 14,0 | 0,24 |
| Total ..... | 358,3 | 65,5 | 72,5 | 103,7 | |
| Moyenne ... | 58,9 | 10,9 | 12,1 | 17,2 | 0,29 |

TABLEAU N° 9

## Expériences concernant les animaux traités par l'Antigène T 745 + acide pantothénique

| Lapin n° | Albumine g °/oo | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rapport γ-globulines / albumines |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *1er prélèvement (avant tout traitement)* | | | |
| 19 | 67,1 | 11,7 | 10,0 | 11,2 | 0,17 |
| 20 | 59,3 | 15,9 | 13,1 | 11,7 | 0,20 |
| 21 | 63,2 | 13,0 | 10,3 | 13,5 | 0,21 |
| 22 | 62,8 | 13,8 | 8,0 | 15,4 | 0,25 |
| 23 | 63,5 | 12,3 | 10,4 | 13,8 | 0,22 |
| 24 | 62,0 | 12,0 | 14,4 | 11,6 | 0,22 |
| Total ..... | 377,9 | 78,7 | 66,2 | 77,2 | |
| Moyenne ... | 63,1 | 13,0 | 11,0 | 12,0 | 0,20 |
| | | *2e prélèvement (avant injection de Bépanthène)* | | | |
| 19 | 62,0 | 11,4 | 10,6 | 16,0 | 0,26 |
| 20 | 57,5 | 15,7 | 11,4 | 15,4 | 0,27 |
| 21 | 54,0 | 16,8 | 13,0 | 16,2 | 0,30 |
| 22 | 51,7 | 13,2 | 18,8 | 16,3 | 0,32 |
| 23 | 58,5 | 8,5 | 12,3 | 20,7 | 0,35 |
| 24 | 59,7 | 8,7 | 12,0 | 19,6 | 0,33 |
| Total ..... | 343,4 | 74,3 | 78,1 | 104,2 | |
| Moyenne ... | 57,2 | 12,4 | 13,0 | 17,4 | 0,31 |
| | | *3e prélèvement (6 semaines après fin de vaccination)* | | | |
| 19 | 57,2 | 15,5 | 12,0 | 15,3 | 0,27 |
| 20 | 59,3 | 13,0 | 11,2 | 16,5 | 0,28 |
| 21 | 57,0 | 13,6 | 11,8 | 17,6 | 0,31 |
| 22 | 58,0 | 11,3 | 13,5 | 17,2 | 0,30 |
| 23 | 55,2 | 9,8 | 15,0 | 20,0 | 0,36 |
| 24 | 61,6 | 9,4 | 11,8 | 17,2 | 0,28 |
| Total ..... | 348,3 | 72,6 | 75,3 | 103,8 | 0,30 |
| Moyenne ... | 58,0 | 12,1 | 12,6 | 17,3 | 0,30 |

Le graphique Figure 11 illustre les résultats de ces deux séries d'expériences.

Les colonnes expriment les valeurs moyennes des tableaux N° 8 et 9 en tenant compte des sérums des animaux témoins, de ceux traités par les antigènes seuls et par l'association antigène + acide pantothénique.

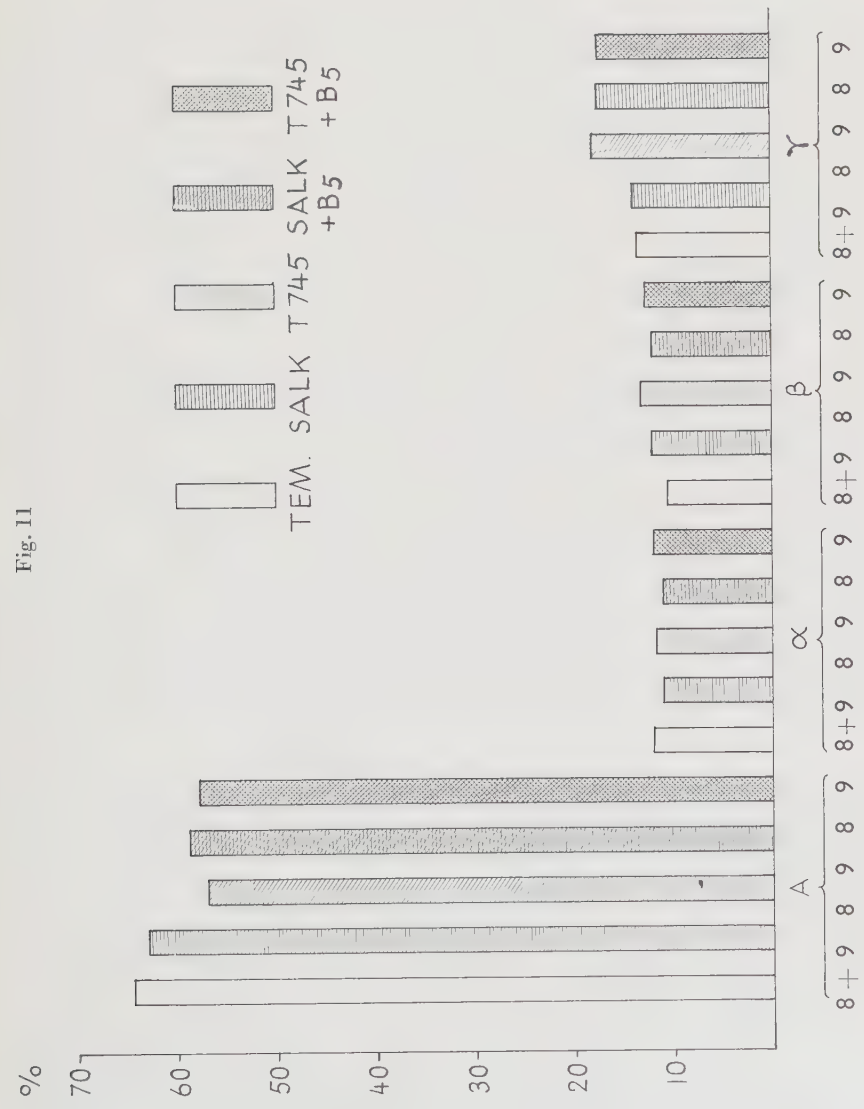



Fig. 11

**Interprétation :**

En considérant les résultats de la première série d'animaux traités par le *vaccin Salk*, on note avant l'injection de *Bépanthène* le même fait déjà observé antérieurement, c'est-à-dire : peu de modifications dans les courbes. Les *γ-globulines* sont légèrement diminuées ou augmentées et les rapports *γ-globulines/albumines* sont sensiblement stables.

L'évolution de l'immunité se manifeste par contre très nettement *après le traitement combiné d'injections intraveineuses de vaccin Salk — injections* sous-cutanées de *Bépanthène*. En effet, les γ-globulines ont nettement augmenté, le rapport γ-globulines albumines également, l'électrophorégramme montre peu de variations pour les α- et β-globulines et le processus immunologique occasionne un fléchissement du taux des albumines, à l'exception du lapin N° 13 qui présentait initialement une γ-globulinémie très élevée. Il en est de même, à un degré moindre cependant, du lapin N° 16, mais même pour ces deux animaux, on voit l'influence de l'*acide pantothénique* sur le taux des γ-globulines, le *rapport γ-globulines/albumines* étant nettement augmenté.

En ce qui concerne la série d'animaux vaccinés par l'*antigène* T 745 on remarque, comme nous l'avons déjà constaté antérieurement, l'influence favorable de cet antigène sur le processus immunologique, puisque lors du 2e prélèvement de sang, nous trouvons un taux nettement accru des γ-globulines et partiellement des β-globulines, *indice de la genèse des anticorps* qui semble avoir atteint son maximum: en effet, six semaines après la fin de la vaccination, *le traitement combiné d'antigène — acide pantothénique* n'a plus amené de changement notable du diagramme électrophorétique. On voit que si l'on veut étudier *l'influence de l'acide pantothénique*, il faut mettre les lapins *en carence d'acide pantothénique* ou employer des vaccins à pouvoir antigénique modéré. En effet, il ne faut pas oublier que nos lapins ont reçu trois injections intraveineuses à la fin de la vaccination au moyen d'un antigène qui en lui-même est très actif.

De toute façon, ces recherches nous ont permis de constater *l'influence favorable de l'acide pantothénique sur la production et la stabilité des processus immunologiques* engendrés au moyen d'un traitement parentéral chez le lapin naturellement très réfractaire à la poliomyélite. A la suite de ces constatations, nous avons jugé nécessaire de mettre à l'essai des méthodes de vaccination moins brutales et c'est pour cette raison que nous avons eu recours à la *vaccination par voie buccale* au moyen de vaccin atténué.

Avant de rapporter les résultats de ces nouveaux essais, nous tenons à exposer ceux de *la réaction de déviation du complément* effectuée sur les sérums des animaux N° 13 à 24, ainsi que ceux *du test de neutralisation* effectué par *l'Institut Sérothérapique et Vaccinal.*

***Réaction de déviation du complément et test de neutralisation avec les antigènes inactivés :***

Comme nous l'avons mentionné, il existe aujourd'hui deux méthodes sérologiques principales pour *le diagnostic d'immunité antipoliomyélitique : la réaction de déviation du complément et le test de neutralisation.* Tandis que *les anticorps de neutralisation apparaissent très rapidement* et conservent leur spécificité de type pendant des années à un taux très élevé, *les anticorps hémolysants* se forment en général seulement au cours de la poliomyélite aiguë ou de la vaccination active et *atteignent leur taux optimal dans le troisième mois* pour disparaître ensuite très rapidement. Ces faits ont été reconnus par un grand nombre de chercheurs et nous ne citons que Schmidt et Lenette (33). Le test de neutralisation ne permet un diagnostic que si l'on constate une augmentation du titre des anticorps au cours de la vaccination ou de la maladie aiguë. Par contre, d'après Schæfer (34) *un résultat positif unique de la réaction de déviation du complément* peut déjà être significatif. D'autre part, cet auteur fait ressortir l'*avantage de la réaction d'hémolyse* au point de vue manipulation et onérosité. Il faut insister sur l'importance de *cette réaction de déviation du complément* au point de vue du diagnostic différentiel d'une infection aiguë récente, mais valable seulement chez les sujets non vaccinés, comme Lennartz, Hertenstein et Cruesemann (35) ainsi que Melnick (36) l'ont constaté.

Depuis l'emploi de *la réaction de déviation du complément*, on a décrit un grand nombre de techniques; celles qui sont actuellement les plus utilisées emploient le complément à doses progressivement croissantes *en présence d'un mélange antigène-anticorps stable.* On a ainsi l'avantage de n'utiliser qu'une seule dilution de sérum. Toutes ces méthodes sont basées sur la technique de Kaup (37) *et ses collaborateurs*, initialement destinée *au diagnostic de la grippe et adaptée ensuite par* Hennessen (38) *à la poliomyélite.* Ces auteurs utilisent une méthode ayant recours à des plaques en matière plastique munies de cupules: il s'agit d'une microméthode permettant de déterminer d'une façon très précise le taux de complément actif. Ils insistent sur le fait qu'il est inutile de faire un dosage préliminaire du complément et que tous les réactifs sont introduits à la dose de 0,03 cc, *ce qui permet une économie notable des antigènes poliomyélitiques* précieux et difficiles à préparer.

Pour la fabrication de ces antigènes, nous renvoyons d'une part à Schmidt et Lenette et d'autre part au travail de Ritschel-Beurlin qui donne une description détaillée de la technique élaborée par Krech.

On voit ainsi que les recherches continuent pour la mise au point *des antigènes solubles et non infectieux* à utiliser dans ces réactions d'hé-

molyse. L'emploi des suspensions virales à partir des cultures sur tissu est le plus répandu; de nombreuses indications de la littérature spécialisée remarquent que *les antigènes non inactivés* possèdent un degré de spécificité plus élevé. Ainsi Muller et Meer (39) rapportent qu'ils ont eu 50 % de résultats positifs en plus avec *de l'antigène actif de cultures du type Hela* qu'avec celui préparé à partir de cultures sur cellules rénales de singe et inactivé.

On conçoit que *les résultats des différents laboratoires* ne sont comparables qu'en employant des antigènes de même origine et qualité.

Dans nos premières séries d'expériences, nous avons utilisé *la technique de déviation du complément d'après la méthode de* Svedmyr et ses collaborateurs (40). Il s'agit de la technique modifiée de Fulton et Dumbell (41); au lieu de pipettes de verre, on utilise des aiguilles N° 19 dont on enlève l'extrémité oblique et que l'on monte sur des seringues *à tuberculine* de 1cc. Il faut vérifier que les réactifs employés donnent 20 gouttes d'eau distillée au cc. Les plateaux en matière plastique sont placés dans des boîtes émaillées; les auteurs emploient deux plateaux, dont l'un est placé à 37° et l'autre à la glacière. Dans les deux cas, on dispose dans le fond des boîtes un tampon de coton hydrophile. Pour ce qui concerne les essais à froid, on place des cubes de glace dans le fond de la boîte; les plateaux sont séparés par des bouchons de caoutchouc et la boîte même doit être fermée hermétiquement par une feuille de paraffine. La suspension de globules de mouton (0,4 %) est d'une concentration double de celle utilisée par Fulton et Dumbell. Cette modification donne des résultats plus lisibles, mais réduit la sensibilité d'après les données de Lepine. Le complément est un mélange de sérum de cobaye conservé en ampoules scellées dans la glace carbonique.

La réaction est effectuée selon la technique classique avec *des quantités constantes d'antigène et de complément en présence de dilutions croissantes de sérum.* Le titrage du complément est fait parallèlement à chaque test. Les quantités de complément employées varient entre 2 et 3 unités, l'unité de complément étant le plus faible volume de sérum de cobaye ayant donné une hémolyse complète; *le titre en anticorps est exprimé par la plus haute dilution du sérum donnant* 50 % *ou plus d'inhibition.* Nous donnons ci-après un schéma illustrant le mode opératoire :

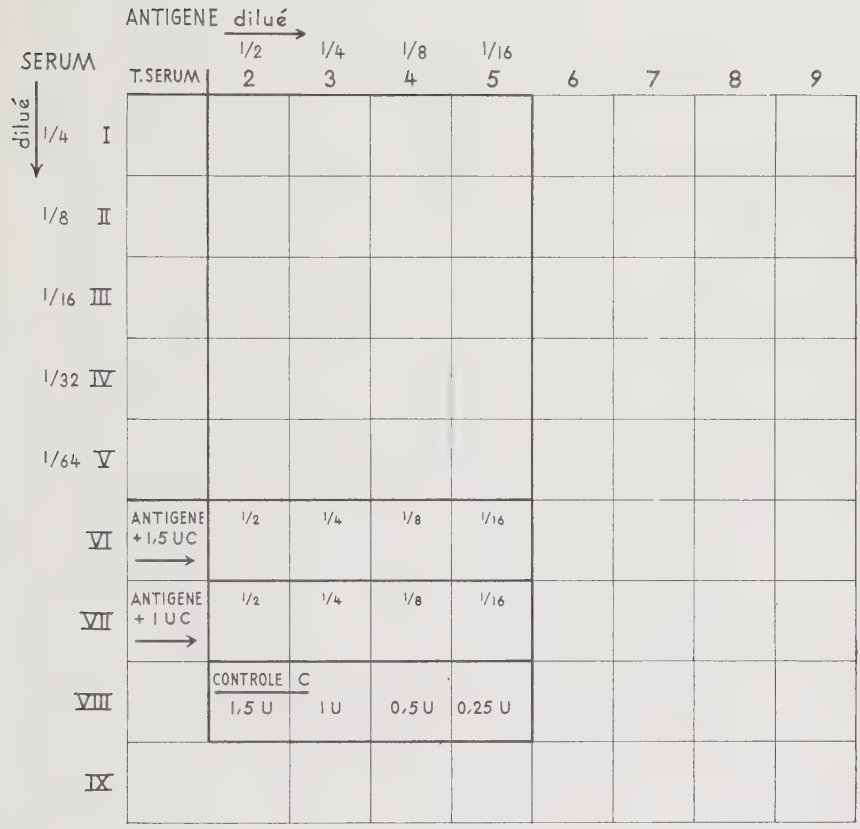



Fig. 12

Schéma illustrant notre mode opératoire concernant la réaction sérologique, où on emploie des doses progressivement décroissantes d'antigène et de sérum à examiner.

Les premières réactions ont été effectuées avec *l'antigène* T 745 *(concentré et inactivé)*; nous tenons à exprimer ici nos remerciements à Madame Ritschel-Beurlin qui a bien voulu se charger de ce travail. Nous rapportons dans les tableaux suivants les résultats de ces réactions.

TABLEAU N° 10

| Lapin n° | Unités d'anticorps | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Prélèvements | | | | | |
| | 8 jours après vaccination | | | 2 mois après vaccination | | |
| | Type | | | Type | | |
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| | *Vaccin Salk seul* | | | | | |
| 1 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 |
| 2 | 1/8 | 1/4 | 1/4 | 1/8 | 1/8 | 1/4 |
| 3 | 1/8 | 1/4 | 1/4 | 1/8 | 1/4 | 1/8 |
| 4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/8 | 1/4 | 1/4 |
| 5 | 1/8 | 1/8 | 1/4 | 1/8 | 1/4 | 1/4 |
| 6 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/8 | 1/4 |
| | *Vaccin Salk + Bépanthène* | | | | | |
| 1 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/32 | 1/16 | 1/8 |
| 2 | 1/8 | 1/8 | 1/4 | 1/64 | 1/32 | 1/8 |
| 3 | 1/8 | 1/8 | 1/4 | 1/64 | 1/32 | 1/64 |
| 4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/64 | 1/64 | 1/32 |
| 5 | 1/8 | 1/4 | 1/8 | 1/32 | 1/32 | 1/8 |
| 6 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/32 | 1/16 | 1/8 |

TABLEAU N° 11

| Lapin n° | Unités d'anticorps | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Antigène T 745 seul | | T 745 + Bépanthène | |
| | Prélèvements | | Prélèvements | |
| | 8 jours | 6 semaines | 8 jours | 6 semaines |
| 7 | 1/8 | 1/128 | 1/8 | 1/128 |
| 8 | 1/4 | 1/64 | 1/8 | 1/128 |
| 9 | 1/8 | 1/64 | 1/8 | 1/32 |
| 10 | 1/8 | 1/32 | 1/16 | 1/32 |
| 11 | 1/16 | 1/64 | 1/16 | 1/64 |
| 12 | 1/8 | 1/128 | 1/16 | 1/128 |

**Interprétation :**

En considérant ces résultats on constate que *le vaccin Salk* n'a pas d'influence sur *la production d'anticorps hémolytiques* dans les deux mois suivant l'immunisation. Par contre, l'*association de ce vaccin avec le Bépanthène* a occasionné une légère stimulation du processus immunologique, se manifestant deux mois après la dernière injection de vaccin, fait qui est conforme à nos observations immuno-électrophorétiques; on voit d'autre part que *le taux d'anticorps est insignifiant* huit jours après la fin de la vaccination et que le titre augmente progressivement, comme SCHMIDT et LENETTE l'ont signalé par leurs observations chez l'homme.

En général, on peut considérer que nos lapins ont peu réagi *à cette vaccination au moyen d'antigène inactivé* et probablement trop faible au point de vue pouvoir antigénique, du moins en ce qui concerne les anticorps hémolysants.

On peut admettre que l'augmentation des γ-globulines constatée dans nos expériences *au moyen de la thérapie associée Vaccin Salk + Bépanthène* est due à la présence d'autres anticorps, peut-être *des anticorps neutralisants*, et c'est pour cette raison que nous avons fait tester les sérums prélevés 2 mois après la vaccination par *l'Institut Sérothérapique et Vaccinal de Berne*, auquel nous exprimons ici nos remerciements.

TABLEAU N° 12

| Lapin n° | Unités d'anticorps neutralisants | | |
|---|---|---|---|
| | Type | | |
| | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| 2 | 1/8 | 1/2 | 1/2 |
| 3 | 1/32 | 1/16 | 1/2 |
| 4 | 1/16 | 1/4 | 1/2 |
| 5 | 1/16 | 1/8 | 1/8 |
| 6 | 1/32 | 1/16 | 1/2 |

Ces résultats semblent indiquer un taux très faible *en anticorps neutralisants*, mais ils ne peuvent pas être pris en considération puisque *le Service Vaccinal* n'a pas poussé assez loin les dilutions de sérum mises à l'épreuve.

Averti par ce fait, nous avons poussé plus avant les dosages lors du contrôle *du sérum de lapin vacciné par l'antigène* T 745. Ici, le titrage n'était

possible que pour *le type viral* N° 1. Les résultats obtenus ont été les suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Lapin N° | 7 | ..... 1/8192 |
| » | 8 | ..... 1/8192 |
| » | 9 | ..... 1/512 |
| » | 10 | ..... 1/712 |
| » | 11 | ..... 1/4096 |
| » | 12 | ..... 1/8192 |

On voit ainsi que *les anticorps neutralisants* existent à un titre relativement élevé chez les lapins soumis *au traitement associé de l'antigène* T 745 + *Bépanthène*. Il en est de même pour *les anticorps hémolysants* qui, au début de l'immunisation, sont faibles tandis qu'après 6 semaines leur production a sensiblement augmenté et ceci pour les deux séries d'animaux, traités avec ou sans pantothénate.

## CHAPITRE VI

## RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT ET TEST DE NEUTRALISATION AVEC DES ANTIGÈNES VIVANTS.

Après l'insuccès de la mise en évidence *des anticorps hémolysants chez les lapins vaccinés avec des antigènes inactivés*, nous avons entrepris une nouvelle série d'expériences à l'aide de vaccin vivant. Comme nous l'avons déjà mentionné, la production des anticorps doit être plus facilement réalisable de cette façon.

Au début, nous avons travaillé avec *un antigène préparé d'après la méthode* de HARE et WARREN (42). Il s'agit *de cultures sur cellules Hela* lavées par *la solution de* HANK sans autre addition et ensemencées avec une suspension de virus type I concentrée. Pendant la culture on a constamment corrigé les valeurs de pH pour les maintenir entre 7,2 et 7,4 par addition d'une solution de Bicarbonate de soude à 1,4 %. Après dégénération complète du voile cellulaire, on procède à une centrifugation à 6 000 t/m pour éliminer les débris cellulaires, puis on additionne d'une solution de gélatine pour obtenir une concentration finale de 0,6 % [BARON (43)]. Ce mélange est ensuite centrifugé à 30 000 t/m pendant 3 heures et à 4°. La phase surnageante est décantée aseptiquement, le sédiment est resuspendu dans *la solution de Hank* puis concentré à 30/1; cette suspension est encore centrifugée à 6 000 t/m pour éliminer les dernières traces cellulaires, puis on décante la phase surnageante qui constitue l'antigène concentré vivant.

*La spécificité et le taux d'antigène à employer* ont été déterminés au moyen de sérum positif et négatif connu. En général, l'antigène peut être employé à une dilution de 1/2 et ne possède pas, dans ces conditions d'action anticomplémentaire.

Étant donné les difficultés que l'on éprouve pour l'obtention de cet antigène que nous voulions employer pour l'*immunisation de nos animaux par voie buccale*, nous avons ensuite eu recours *au vaccin atténué de* SABIN. Le contenu d'un flacon de 10 cc à 200 000 — 400 000 unités infectieuses du type de virus est dilué à 1/2 au moyen de la solution tampon au Véronal; nous avons utilisé cette suspension aussi bien *pour vacciner nos lapins par voie buccale que comme antigène dans la réaction sérologique*. Nous avons seulement employé *le vaccin monovalent du type 1 Sabin*, que nous avons administré par sonde à raison de 0,5 cc dans un peu d'eau sucrée, et ceci une fois par semaine pendant 6 semaines.

En ce qui concerne *la série traitée conjointement au Pantothénate*, nous avons injecté aux animaux deux fois par semaine 0,5 cc de Bépanthène par voie sous-cutanée.

Le contrôle de l'immunisation a été effectué 15 jours et trois mois après la fin de la vaccination ; *pendant tout ce temps, nous avons continué à injecter une fois par semaine le Bépanthène.*

### *Dosage des anticorps hémolysants :*

Comme Ritschel-Beurlin le mentionne, l'*emploi des résidus de culture de virus Pm* est entré dans la pratique courante pour la mise en évidence des anticorps spécifiques. En nous référant à ces travaux, nous avons décidé de recourir *à la méthode de Kolmer*, en *variant les dilutions de complément et en travaillant avec un mélange stable d'antigène et d'anticorps spécifiques* (*immunsérum de lapin*). Le sérum hémolytique doit être très puissant, car on doit pouvoir l'employer comme réactif à l'état de trace. L'émulsion d'hématies de mouton est utilisée à la concentration de 2 % en partant du culot. On est obligé de pratiquer un titrage préliminaire du complément et du système hémolytique : pour la réaction définitive on opère à la température de 6° à 8° pendant 15 à 18 heures dans le premier temps de la réaction où la fixation *des anticorps antipoliomyélitiques* devrait s'effectuer.

**Réactifs à préparer :**

Le soluté physiologique à 0,9 % est préparé à l'aide de Chlorure de sodium chimiquement pur et additionné de 0,1 % de Sulfate de magnésium. Dans un essai préliminaire, 5 cc de ce soluté physiologique ne doivent pas hémolyser une goutte d'émulsion d'hématies de mouton après 1 heure à 37°.

Le complément à utiliser doit toujours être constitué par plusieurs sérums de cobaye mélangés. Nous avons eu recours au *complément sec de l'Institut Pasteur*, qui est fourni dans des ampoules dont le contenu, dissous dans un liquide conservateur, donne 0,5 cc de sérum pur. On le dilue à l'aide de soluté physiologique, conformément aux indications concernant *la méthode de Kolmer.*

L'émulsion d'hématies de mouton est préparée au moyen de sang recueilli sur une solution de Citrate de soude à 10 %, à raison de 30 cc pour 1 000 cc de sang. On peut stabiliser ce sang en y ajoutant 2 cc de Formol *du Codex*. On agite, on dispose à la glacière, puis on lave les globules comme d'habitude. Après une dernière centrifugation pendant 10 à 15 minutes à 2 000 t/m, on décante soigneusement le liquide de lavage et on ne conserve que le culot globulaire. On met ce culot d'hématies en suspension homogène dans le soluté physiologique au taux de 2 %.

Quant au *sérum hémolytique anti-mouton*, nous avons eu recours à celui de *l'Institut Pasteur* titré à 10 000 U/cc.

*L'immunsérum antipolio* a été préparé comme indiqué antérieurement, il est inactivé par chauffage à 56° pendant 30 minutes. Comme réactif de comparaison, nous avions à notre disposition l'*immunsérum antipoliomyélitique de singe type* 1 *des Behringwerke et l'immunsérum antipoliomyélitique de lapin type* 1 *Mahoney de Berne.*

*La réaction de Kolmer* a été légèrement modifiée, surtout en ce qui concerne la concentration de l'antigène qui était de 1/2. Le titrage du complément a été effectué d'après le schéma suivant, en employant pour l'antigène 7 tubes et 1 tube témoin pour le contrôle des hématies de mouton. Le titre du complément a été déterminé par un essai préliminaire. On se base sur le 1er tube en partant de la gauche qui présente une hémolyse totale; le taux du complément de ce tube est considéré comme 1 unité. Pour la réaction définitive, nous avons alors employé 2 unités de complément dans un volume total de 0,4 cc de liquide, soit à une dilution de 1/50 ou 1/100. Dans ces conditions on obtient les gammes de dilutions suivantes :

K : 1/50 : .....1/100 - 1/66 - 1/50 - 1/40 - 1/35 - 1/28 - 1/25 ;

K : 1/100 : .....1/200 - 1/132 - 1/100 - 1/80 - 1/70 - 1/56 - 1/50.

TABLEAU N° 13

| Réactifs | Tubes n° | | | | | | | Témoin |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| Complément dilué .... | 0,10 | 0,15 | 0,20 | 0,25 | 0,30 | 0,35 | 0,40 | 0,0 |
| Antigène 1/2 ..... | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,0 |
| Soluté physiologique... | 0,30 | 0,25 | 0,20 | 0,15 | 0,10 | 0,05 | 0,00 | 0,50 |
| Bain-marie à 37° pendant 60 minutes | | | | | | | | |
| Sérum hémolytique 1/400..... | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,0 |
| Suspension d'hém. de mouton 2 % ..... | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 |

La réaction définitive a été effectuée d'après le schéma ci-dessous :

TABLEAU N° 14

| Réactifs | Tubes n° 1 R | 2 TS | 3 TA | 4 TSH | 5 TGR |
|---|---|---|---|---|---|
| Sérum x inactivé ..... | 0,05 | 0,05 | — | — | — |
| Antigène 1 2 ..... | 0,10 | — | 0,10 | — | — |
| Soluté physiologique ..... | — | 0,10 | 0,05 | 0,15 | 0,65 |
| Complément 2 U 0,4 cc... | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 |
| 15-18 heures à 7°, puis 10 minutes à 37° | | | | | |
| Sérum hémolytique ..... | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | — |
| Suspension d'hém. de mouton 2% ..... | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 |
| Bain-marie à 37° | | | | | |
| Lecture 10 minutes après hémolyse du témoin sérum | | | | | |

Légende : R = réaction; TS = témoin sérum; TA = témoin antigène : TSH = témoin sérum hémolytique ; TGR = témoin globules rouges.

*Les deux sérums antipoliomyélitiques de référence* ont ainsi été testés pour déceler leur taux d'anticorps en rapport avec notre antigène.

TABLEAU N° 15

| Lapin n° | Albumines | Globulines α | Globulines β | Globulines γ | Rapport γ-globulines albumine |
|---|---|---|---|---|---|
| 25 | 61.2 | 12,1 | 12.9 | 13,8 | 0,23 |
| 26 | 58.9 | 13.5 | 14.4 | 13,2 | 0,22 |
| 27 | 63.6 | 10.4 | 13.0 | 13.0 | 0.20 |
| 28 | 62.6 | 12,4 | 10.8 | 14,2 | 0.23 |
| 29 | 61.4 | 10.6 | 13,7 | 14,3 | 0,23 |
| 30 | 56.8 | 12.5 | 14.9 | 15.8 | 0.28 |
| 31 | 58.8 | 13.2 | 13.7 | 14,3 | 0.24 |
| 32 | 64.0 | 12.5 | 13.4 | 10.1 | 0.16 |
| 33 | 60.6 | 12.4 | 12.2 | 14.8 | 0.24 |
| 34 | 61.9 | 11,6 | 13.2 | 13,3 | 0,21 |
| 35 | 59.7 | 12.4 | 13.8 | 14.1 | 0.23 |
| 36 | 60.3 | 10,9 | 14,1 | 14,7 | 0,24 |

*Pour les essais quantitatifs*, nous avons vacciné 12 lapins d'après le protocole décrit antérieurement. Les lapins N° 25 à 30 ont été vaccinés *uniquement avec l'antigène buccal*, alors que les animaux N° 31 à 36 ont reçu en plus *du Bépanthène*. Nous donnons dans le tableau N° 15 les résultats de l'analyse électrophorétique de contrôle.

Le sang de ces lapins a été prélevé 15 jours et trois mois après la fin de la vaccination et *les réactions de déviation du complément* ont été faites sur ces sérums.

**Essai quantitatif de la réaction de déviation du complément :**

Ces recherches ont été effectuées avec 0,1 cc de notre antigène dilué à 1/2, puis 0,05 cc de sérum à 1/400 et les différents titres de complément indiqués antérieurement.

*On peut interpréter quantitativement les résultats de la méthode de Kolmer* en adoptant les principes de la réaction d'après KAHN. Un immunsérum donnant en présence d'une dilution de complément une réaction nettement positive (+++) est estimé à 4 Unités. Lorsqu'une réaction est davantage positive on exprime le nombre d'unités en multipliant par 4 le dénominateur de la dilution donnant encore une réaction positive à ++.

TABLEAU N° 16

| Lapin n° | Anticorps hémolysants | | Anticorps neutralisants | |
|---|---|---|---|---|
| | Après | | Après | |
| | 15 jours | 3 mois | 15 jours | 3 mois |
| | *Antigène vivant seul* | | | |
| 25 | 24 | 96 | 1/256 | 1/256 |
| 26 | 16 | 72 | 1/256 | 1/320 |
| 27 | 40 | 160 | 1/256 | 1/672 |
| 28 | 48 | 192 | 1/256 | 1/672 |
| 29 | 16 | 96 | 1/256 | 1/256 |
| 30 | 20 | 96 | 1/256 | 1/320 |
| | *Antigène vivant + Bépanthène* | | | |
| 31 | 48 | 288 | 1/2 484 | 1/16 284 |
| 32 | 96 | 672 | 1/3 390 | 1/21 000 |
| 33 | 96 | 576 | 1/672 | 1/23 296 |
| 34 | 72 | 672 | 1/1 488 | 1/11 520 |
| 35 | 80 | 864 | 1/2 112 | 1/36 000 |
| 36 | 120 | 960 | 1/4 760 | 1/65 536 |

**Interprétation :**

En considérant les résultats de *la première série d'animaux vaccinés uniquement avec l'antigène buccal*, on note une formation d'anticorps hémolysants relativement restreinte 15 jours après la fin de la vaccination, tandis qu'après 3 mois, le taux est 3 à 4 fois plus fort. En ce qui concerne *les anticorps neutralisants*, leur titre est resté stable dans toute la série d'animaux lors du premier prélèvement alors que trois mois plus tard, il est légèrement augmenté. On se rend ainsi compte qu'il *est très difficile de provoquer un état d'immunité marqué et durable par vaccination buccale du lapin.*

*L'association du vaccin vivant avec l'acide pantothénique* donne un résultat beaucoup plus probant ; en effet, 15 jours après la fin de la vaccination, les titres d'anticorps sont sensiblement identiques à ceux de la première série après 3 mois. Au cours de cette période *l'immunité augmente notablement*, puisque les anticorps hémolysants ont atteint près de 10 fois la valeur initiale.

*Les anticorps neutralisants* témoignent pour les deux prélèvements d'un état d'immunité très prononcé.

Nous voyons ainsi que *la vaccination buccale à l'aide de vaccin vivant* présente un avantage sérieux *sur la vaccination parentérale* et ceci aussi bien en ce qui concerne la genèse des anticorps hémolysants que celle des anticorps neutralisants. Il ressort d'autre part de ces essais que *la réaction de déviation du complément* peut être utilisée pour le diagnostic expérimental de l'état d'immunité antipoliomyélitique. Les résultats de la réaction d'hémolyse sont en rapport avec les antigènes employés et il nous semble que *les antigènes vivants se prêtent plus avantageusement à cette réaction que les antigènes inactivés.*

On pourrait expliquer cette action immunisante plus prononcée par voie buccale par le fait que *le virus vivant et atténué* se fixe sélectivement sur les muqueuses intestinales et réagit chez le lapin comme un symbiote en élaborant des anticorps spécifiques au niveau des tissus cellulaires de prédilection. Il n'est donc pas étonnant que *les titres des anticorps hémolysants et neutralisants* atteignent une valeur optimale après trois mois, sans vouloir prétendre que l'état d'immunité ait atteint son maximum à ce moment, puisque comme Ritschel-Beurlin le fait remarquer :

« Il existe une évolution périodique de la courbe *des anticorps antipoliomyélitique* que nous avons enregistrée et ce cycle, comme on le cite dans la littérature spécialisée, n'est pas spécifique à la poliomyélite, mais à un grand nombre d'autres maladies virales...

« Si l'on consulte nos valeurs, on constate que le premier optimum se situe entre le 7e et le 14e jour; après une période de 5 semaines apparaît la seconde cime du taux d'anticorps et 5 semaines plus tard la troisième.

Il nous faut donc supposer que *le cycle de périodicité de la poliomyélite* est de 5 semaines ».

Il serait ainsi possible d'après ces données, que le taux des anticorps augmente encore après le troisième mois de la vaccination et des recherches ultérieures seraient nécessaires pour contrôler la stabilisation définitive du taux d'anticorps dans le temps.

Pour expliquer l'action favorable *de l'acide pantothénique*, nous pourrions nous référer à des travaux que nous avons cités antérieurement ; en effet, nous avons vu que l'on peut envisager *la Vitamine* $B_5$ comme un facteur d'« *immunoprotection* » agissant surtout sur le tissu mésenchymateux et produisant ainsi un effet détoxiquant sur l'antigène introduit comme vaccin inactivé à très forte dose, ou comme vaccin vivant. Cet effet protecteur peut être attribué à l'action catalysante des enzymes et surtout de la Coenzyme A, protégeant les cellules et surtout les mitochondries contre l'effet nocif *des vaccins poliomyélitiques inactivés et introduits par voie parentérale*. Par contre, l'administration prolongée *des vaccins vivants atténués par voie buccale* pourrait occasionner un blocage de la genèse de *l'acide pantothénique* par la flore intestinale ou éventuellement de l'absorption de *cet acide pantothénique* au niveau des muqueuses intestinales, lieu de fixation sélectif du virus poliomyélitique et de sa lutte avec la flore microbienne normale du tube digestif.

L'hypovitaminose pantothénique serait ainsi un phénomène de concurrence vitale entre l'intrus virale et les germes symbiotiques de notre intestin.

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Grâce au principe de *la culture sur tissu*, on a pu mettre au point pour *le diagnostic de la poliomyélite le test de neutralisation* basé sur l'effet cytopathogène du virus et facilement contrôlable au microscope ordinaire. Cependant, comme RITSCHEL-BEURLIN le fait déjà remarquer, cette méthode est réservée à *des laboratoires spécialisés* et il serait préférable d'avoir à sa disposition des méthodes moins dangereuses, telles que *les méthodes sérologiques de déviation du complément, de précipitation et d'électrophorèse.*

Nous avons voulu apporter une contribution à ce problème en essayant de contrôler *l'immunité naturelle et artificielle* au moyen de ces méthodes sérologiques. Cette étude nous a semblé très importante, étant donné l'emploi généralisé du *vaccin poliomyélitique, tant du type Salk-Lépine (tué) que du type Sabin-Koprowsky (atténué).* C'est surtout pour cette dernière vaccination avec *des virus vivants* que le contrôle de l'immunité artificiellement conférée et le passage éventuel des virus vivants aux sujets de contact est de première importance et nécessite des méthodes plus courantes.

D'autre part, il nous paraissait important de contrôler l'influence *de l'acide pantothénique* sur l'évolution de l'immunité, problème qui a déjà fait l'objet d'un certain nombre de travaux, en particulier dans *le Service de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.*

Nous avons ainsi essayé de comparer les résultats *des réactions d'hémolyse et d'électrophorèse avec le test de neutralisation*, seul considéré jusqu'à présent comme valable.

Nous avons jugé nécessaire de donner dans *la partie historique* de notre travail des renseignements généraux concernant *l'étude morphologique, culturale et l'isolement du virus poliomyélitique.* D'autre part nous avons insisté sur *le problème épidémiologique de la poliomyélite et de la vaccination poliomyélitique* qui nous semblait assez important, étant donné l'emploi devenu courant des *vaccins à virus vivants atténués.*

En même temps nous avons rapporté *un certain nombre de statistiques* concernant la poliomyélite dans différents pays, en insistant plus particulièrement sur *la France et la Suisse.*

Nos travaux personnels ont trait à *l'étude électrophorétique du sérum de lapins normaux et vaccinés contre la poliomyélite.* Les résultats des électrophorégrammes ont été comparés à ceux de la réaction de déviation du complément et du test de neutralisation. Toutes ces méthodes sont décrites en détail.

Pour être sûr de travailler avec *des lapins entièrement sains*, nous avons sélectionné 36 lapins en nous basant sur les valeurs électrophorétiques dont les résultats ont été calculés en rapport avec *le taux des protides totaux* établi par la méthode de KINGSLEY et à l'aide du réactif au Biuret. Lors de nos recherches, nous avons constaté que l'*interprétation des électrophorégrammes* est souvent faussée par des traces d'hémoglobine qui se trouvent fréquemment dans le sérum de lapin, très sujet à l'hémolyse. Nous nous sommes ainsi référé aux travaux de BOGUTH; nous avons pu constater que la plus grande partie de *l'hémoglobine migre avec la fraction de* $\beta_2$*-globulines*. Nous avons donc tenu compte de ce facteur d'erreur et l'avons éliminé en corrigeant proportionnellement les valeurs des différentes fractions globuliniques. C'est également pour cette raison que nous avons dû renoncer à l'emploi de *l'intégrateur Zeiss* et dû changer le système de coordination en ne tenant pas compte de l'abscisse initiale, mais de celle corrigée en rapport avec le taux de la traînée d'hémoglobine.

*Pour l'interprétation du processus immunologique*, nous nous sommes référé aux travaux de HEYMANN et WAHLIG, en nous basant surtout sur les variations *du taux d'albumine et du rapport* $\gamma$*-globulines/albumines*.

Pour la vaccination de nos lapins, nous avons eu recours à trois antigènes : *le vaccin Salk trivalent et inactivé*, *un vaccin concentré type Mahoney* (T 745) *inactivé également*, et *un vaccin vivant monovalent* destiné à l'immunisation par voie buccale (SABIN).

*Le vaccin Salk* avait peu d'influence sur les différentes fractions globuliniques du sérum de nos lapins; par contre *l'antigène* T 745 a sensiblement modifié le taux des albumines et le rapport $\gamma$-globuline albumine.

Six semaines après la dernière injection de vaccin, les électrophorégrammes des deux séries d'animaux montraient un retour vers des valeurs normales. *La stabilité des anticorps semble donc peu durable.*

Nous avons ensuite eu recours à une thérapie associée au moyen de l'un des *deux vaccins + acide pantothénique*. Ce dernier a été administré par voie sous-cutanée à raison de 0,125 g de Pantothénol à partir de la 4$^e$ semaine et deux fois par semaine. Les prélèvements ont été effectués à la fin de la 3$^e$ semaine de la vaccination et six semaines après la fin de celle-ci.

Dans le sang des lapins traités par *le vaccin Salk + Bépanthène* nous avons enregistré une augmentation notable de l'immunité, alors que les lapins traités par *l'antigène* T 745 ne montraient guère d'influence du Bépanthène.

On voit ainsi que si l'on veut étudier *l'influence de l'acide pantothénique*, il est nécessaire de mettre les lapins en carence vitaminique ou d'employer des vaccins à pouvoir antigénique modéré. Ces recherches nous ont permis de constater l'influence favorable de *l'acide pantothénique* administré selon nos conditions expérimentales sur la production

et la stabilité des facteurs immunologiques engendrés chez le lapin naturellement très réfractaire à la poliomyélite.

Nous avons ensuite contrôlé *la genèse des anticorps hémolysants* et leur augmentation en rapport avec l'emploi des différents vaccins seuls ou associés au Bépanthène. A ce sujet, nous avons eu recours à *la réaction de déviation du complément au moyen de la micro-méthode de* Svedmyr, Fulton et Dumbell. Nous avons ainsi constaté que *le vaccin Salk* n'a pas d'influence sur la production d'anticorps hémolytiques dans les deux mois suivant l'immunisation. Par contre *l'association de ce vaccin avec le Bépanthène* occasionne une légère stimulation de la production des anticorps hémolysants. Il en est de même pour les anticorps neutralisants. Les deux sortes d'anticorps, *neutralisants et hémolysants*, sont faibles dans les premières semaines de la vaccination par l'antigène T 745 + Bépanthène. Ces taux augmentent ensuite progressivement et nous notons des titres de 1/128 d'anticorps hémolysants et de 1/8 000 d'anticorps neutralisants.

Nous avons ensuite entrepris une nouvelle série d'expériences à l'aide *de vaccin vivant administré par voie buccale* et qui constitue un mode de vaccination moins agressif. Nos expériences ont été effectuées à l'aide *du vaccin vivant de Sabin:* le contenu d'un flacon de 10 cc à 200 000 - 400 000 unités infectieuses *du type* 1 *du virus Pm* est dilué à 1/2 au moyen de solution tampon au Véronal. Nous avons utilisé cette suspension aussi bien *pour vacciner nos lapins que comme antigène dans la réaction sérologique*. Le vaccin était administré par sonde une fois par semaine pendant 6 semaines, à raison de 0,5 cc dans un peu d'eau sucrée. En ce qui concerne *la thérapie associée*, nous avons injecté par voie sous-cutanée 0,5 cc *de Bépanthène* deux fois par semaine. Le contrôle de l'immunisation a été effectué 15 jours et trois mois après la fin de la vaccination par *le dosage des anticorps hémolysants et neutralisants*. L'état d'immunité de ces séries d'animaux a été contrôlé par *la méthode de Kolmer* pour la réaction de déviation du complément.

Le sang des animaux *vaccinés uniquement avec l'antigène vivant* a révélé une augmentation progressive des deux sortes d'anticorps au cours des trois mois de l'expérience. *L'action du traitement combiné est très démonstrative*, puisqu'au dernier prélèvement de sang, nous constatons *des taux de* 960 *unités d'anticorps hémolytiques* et de 1/65 000 *d'anticorps neutralisants*, alors que dans la série témoin (*sans acide pantothénique*) nous n'enregistrons que 192 *unités d'anticorps hémolysants d'anticorps neutralisants.*

Nous voyons ainsi que *la vaccination buccale à l'aide d'un vaccin vivant atténué présente un avantage sérieux sur la vaccination parentérale au moyen de vaccin inactivé*, et ceci aussi bien en ce qui concerne la genèse des anticorps hémolysants que celle des anticorps neutralisants. D'autre part, en employant des conditions expérimentales nettement définies nous avons pu constater que *l'acide pantothénique* stimule favorablement la production de ces facteurs immunisants. Dans le dernier chapitre,

nous avons tenté d'expliquer ce phénomène qui peut être attribué soit à *une inhibition de l'élaboration de la Vitamine* $B_5$ par la flore intestinale consécutive à la concurrence vitale *entre la flore bactérienne et virale normale et le virus Pm introduit*, soit à un trouble de l'absorption au niveau des muqueuses intestinales qui constituent le lieu de fixation électif du *virus poliomyélitique*. Dans ce dernier cas, la *coenzyme* A pourrait jouer un rôle. Il nous semble que la stimulation du processus immunologique par *l'acide pantothénique* n'est pas comparable au phénomène catalysant connu par la vaccination parentérale associée à des facteurs adjuvants.

En ce qui concerne les déductions cliniques que l'on peut tirer de notre travail, il faut tout d'abord retenir que la vaccination au moyen du vaccin vivant de Sabin n'a donné lieu, jusqu'à présent, à *aucune réinfection par contact;* la seule objection qu'on peut formuler à son sujet, c'est le *pouvoir immunisant relativement faible du type* III contenu dans le vaccin. Les quelques accidents qui ont été relevés à Berlin, à la suite de la vaccination buccale atténuée doivent être imputés à l'emploi de l'ancien vaccin de Cox (Léderlé). Ce vaccin n'est plus employé actuellement et Cox travaille à la préparation d'un nouveau vaccin renfermant justement une souche III plus efficace.

En Suisse, les vaccins vivants suivants ont été employés :

Vaccin Cox : environ 100 000 sujets;

Vaccin Koprowsky : environ 350 000 sujets;

Vaccin Sabin : environ 1 500 000 sujets vaccinés.

A la suite de l'emploi du vaccin Sabin, la morbidité poliomyélitique du premier semestre 1962 n'a été que *de cinq cas pour toute la Suisse.*

De l'ensemble de nos recherches il ressort qu'on pourrait employer sans inconvénient le vaccin vivant de Sabin par voie orale, à partir du 3e mois de la vie. La thérapie prophylactique *associée avec l'acide pantothénique* est recommandable par suite de l'augmentation et de la stabilisation du titre des anticorps.

Cependant, pour éviter tout danger de contamination par contact et une réactivation des virus vaccinaux atténués, on devrait prévoir la vaccination primaire au moyen du vaccin tué, type Salk ou Lépine, en administrant les trois premières piqûres classiques; trois mois plus tard, ou à titre de rappel dans l'année qui suit, il serait recommandable d'employer le vaccin atténué qui, introduit dans un organisme déjà immunisé, ne risquerait plus de provoquer d'accident. Cette vaccination buccale devrait se pratiquer d'abord par le vaccin type I, puis après 6 semaines par les types II et III, en y associant toujours l'acide pantothénique.

Nous croyons ainsi avoir pu apporter *une contribution utile à la vaccination contre la poliomyélite*, ainsi qu'au problème qui nous a été posé concernant *le rôle de l'acide pantothénique* dans tous processus immunologiques.

## BIBLIOGRAPHIE


(3) Bauer et Hugues. — Journ. of. exp. Med., 1940, 71, 703.

(43) Baron. — Proc. Soc. exp. Biol. and Med., New York, 1957, 95, 760.

(30) Bloch J.-C. — Influence de l'acide pantothénique sur le taux alexique du sérum de lapin. Technique de l'hémolyse à 50 % et dosage des quatre chaînons du Complément. Thèse Docteur Pharm. Strasbourg 1960.

(13) Bodian D. — Bull. Hopkins Hosp., 1941, 69, 79.

(24) Boguth W. — Zentralbl. f. Veterinärmed., 1954, 1, 168 et 311.

(15) Burnet. — Journ. Clin. Invest., 1950, 29, 169.

(20) Casals, Olitzky et Sabin. — Journ. exp. Med., 1952, 96, 35.

(4) Elford. — Brit. Journ. exp. Path., 1936, 17, 422.

(18) Enders, Weller et Robins. — Science, 1949, 109, 85.

(14) Faber. — Encyclop. Méd.-Chirurg., Mal. Infect., Tome II, 8058 A-50.

(41) Fulton et Dumbell. — Journ. gen. Microbiol., 1949, 3, 97.

(6) Gard S. — Acta Med. Scand., 1943, suppl., 143.

(25) Geinitz. — Klin. Wochenschr. 1954, 32, 1108.

(22) Grassmann et Hannig. — Deutsche Med. Woch., 1951, 76, 333.

(16) Grumbach A. — Bull. Fédéral Hyg. Publique, Berne 1960, suppl. N° 2, p. 23.

(9) Hamon. — Journ. Amer. Med. Ass., 1952, 150, 739 et 750.

(42) Hare et Warren. — Amer. Journal Hyg., 1958, 67, 350.

(38) Hennessen. — Zeit. Hyg. und Infekt. Krankh., 1955, 141, 557; Deutsche Med. Woch., 1955, 80, 1044 et 1565.

(27) Heymann et Wahlig. — Zeit. Immunitätsforsch. und exp. Ther., 1958, 115, 185.

(37) Kaup, Balser, Hatziwasiliu et Kretschner. — Arch. Hyg. Berlin 1918, 87.

(8) Kling, Levaditi et Lepine. — Bull. Ac. Méd., 1929, 102, 158.

(2) Kruger et Schultz. — Voir Encyclop. Méd. Chirurg. 8058, A-70.

(1) Landsteiner et Levaditi. — Zeit. Immunitätsforsch., 1909, 2, 377.

(35) Lennartz, Hertenstein et Cruesemann. — Deutsch. Kl. Woch., 1959, 37, 1261.

(12) Lepine, Sedaillan et Sautter. — Encyclop. Méd.-Chir., Mal. Infect., Tome II, 8058 A-50.

(10) Lepine et Sohier. — Techniques de Laboratoire pour le diagnostic des maladies à virus. Masson, Paris, 1954.

(5) Levaditi. — C.R. Soc. Biol., 1936, 121, 805.

(7) Loring et Schwerdt. — Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 1946, 62, 289 et 291.

(32) Mascitelli-Coriandoli. — Naturwiss. 1958, 45, 442; 1959, 46, 111.

(36) Melnick. — Deutsch. Med. Woch., 1957, 82, 1080.

(29) Meyer J. — Service Bibliographique « roche », 29e année, 1961, N° 11, p. 41.

(31) Muckter H. — Antibiotica et Chemotherapia, Karger, Bâle. 1961, vol. 9, p. 83-114.

(39) Muller et Meer. — Zeit. Hyg. und Infekt. Kr., 1960, 147, 50.

(21) Ritschel-Beurlin G. — Les anticorps précipitants dans la poliomyélite. Leur rapport avec la pantothénothérapie. Thèse Docteur Pharm. Strasbourg 1960.

(28) Rossi E. — Bull. Serv. Fédéral de l'Hyg. Publ., avril 1960, suppl. B-2, p. 59.

(17) Sabin et Olitzky. — Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 1936, 34, 357.

(11) Schabel et coll. — Encyclop. Médico-Chirurg., Maladies Infect., 6-1958, 8058 A-50 p. 2.

(34) Schæfer E. — Deutsch. Med. Woch., 1962, 87, 1296.

(33) Schmitt et Lenette. — Journ. exp. Med., 1955, 102, 133. Amer. Journ. Hyg., 1957, 65, 210.

(19) Steigman A.J. et Sabin A.B. — Journ. exp. Med., 1949, 90, 349.

(40) Svedmyr, Enders et Holloway. — Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 1952, 79, 296.

(23) Wahlig. — Thèse Docteur Chimie, Darmstadt, 1956, D 17.

(26) Wieme. — Revue Belge Pathol., 1954, 23, 321.

Vu, Strasbourg, le 17 Septembre 1962

Le Président du Jury,

R. SARTORY

Vu et approuvé :

Strasbourg, le 22 Septembre 1962

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

G GAZET DU CHATELIER

Vu et permis d'imprimer :

Strasbourg, le 2 Octobre 1962

Le Recteur de l'Académie
Président du Conseil de l'Université

J. F. ANGELLOZ

# TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION ..... 5

PLAN DE TRAVAIL ..... 7

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE I

**Étude morphologique, culturale et isolement du virus poliomyélitique**

Morphologie ..... 9

Propriétés physico-chimiques ..... 9

Culture du virus de la poliomyélite ..... 10

Isolement du virus poliomyélitique ..... 12

CHAPITRE II

**Épidémiologie de la poliomyélite**

Problèmes de la contagion ..... 13

Source de l'infection ..... 14

Mode de pénétration des virus ..... 14

Localisation du virus chez le sujet infecté ..... 15

Autres causes traumatiques ..... 17

Épidémiologie proprement dite et statistiques pour la France et la Suisse ... 18

La mortalité ..... 21

CHAPITRE III

**La vaccination antipoliomyélitique**

Vaccins sensibilisés ..... 23
Vaccins à virus atténués (vaccins vivants) ..... 24
Vaccins à virus inactivés (vaccins tués) ..... 25
Posologie et mode d'administration ..... 27

## DEUXIÈME PARTIE

## TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE IV

**Étude électrophorétique du sérum de lapins normaux et vaccinés contre la poliomyélite**

Étude électrophorétique du sérum des lapins normaux ..... 29
Dosage des protides totaux ..... 30
Technique d'électrophorèse ..... 32
Technique de vaccination ..... 37

CHAPITRE V

**Étude électrophorétique du sérum de lapins traités par la vaccination antipoliomyélitique + acide pantothénique** ..... 47

Interprétation ..... 51
Réaction de déviation du complément et test de neutralisation avec les antigènes inactivés ..... 52
Interprétation ..... 56

CHAPITRE VI

**Réaction de déviation du complément et test de neutralisation avec des antigènes vivants** ..... 59

Dosage des anticorps hémolysants ..... 60

Essai quantitatif de la réaction de déviation du complément ..... 63

Interprétation ..... 64

CONCLUSIONS GÉNÉRALES ..... 67

BIBLIOGRAPHIE ..... 71

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES
DE STRASBOURG

*

Dépôt légal N° 2144/1962